

**Efectos del pastoreo y la inundación salina en marismas dominadas
por *Spartina densiflora***

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Di Bella, Carla Estefanía

Ingeniera Agrónoma - Universidad de Buenos Aires – 2007

Lugar de trabajo:

Cátedra de Forrajicultura, Fac. de Agronomía (UBA)

IFEVA-CONICET



Escuela para Graduados Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Rodolfo A. Golluscio

Ing. Agrónomo (UBA)

M. Sc. (UBA)

Dr. (UBA)

Co-director

Agustín A. Grimoldi

Ing. Agrónomo (UBA)

M. Sc. (UBA)

Dr. (Technische Universität München,
Freising-Weihenstephan, Alemania)

Consejero de Estudios

Miguel A. Taboada

Ing. Agrónomo (UBA)

M. Sc. (UBA)

Dr. (Institut National Polytechnique de
Toulouse, Francia)

Consejero de Estudios

Gustavo G. Striker

Ing. Agrónomo (UBA)

Dr. (UBA)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Rodolfo A. Golluscio

Ing. Agrónomo (UBA)

M. Sc. (UBA)

Dr. (UBA)

JURADO

Alejandro Bortolus

Licenciado en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina)

Dr. (Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina)

JURADO

Raúl S. Lavado

Ing. Agrónomo (UBA)

JURADO

Alice Altesor

Licenciada en Biología (Universidad Nacional Autónoma de México, México)

M. Sc. (Universidad Nacional Autónoma de México , México)

Dra.en Ecología (Universidad Nacional Autónoma de México , México)

Fecha de defensa de la tesis: 27 de Marzo de 2014

A los profesores que me guiaron en esta etapa,

A mi familia,

A mis amigos.

Agradecimientos

Quiero agradecer principalmente a mi familia, a mi mamá, a mi papá y a mi hermana, por acompañarme desde siempre en este camino que decidí emprender hace ya varios años. Son los que me apoyaron y estuvieron presentes siempre. Los amo!

A los profes, Agustín Grimoldi, Gustavo Striker, Rodolfo Golluscio, Miguel Taboada y Adriana Rodríguez, por el compromiso que pusieron siempre, porque supieron guiarme en este camino y confiar en mí.

A mis compañeros y amigos de oficina y de la cátedra, Magdalena, Mercedes, Fernando, Pilar, Paula, Gonzalo, Fernanda, Soledad y Darío, por alegrar cada día de mi vida y hacer que de gusto levantarse para ir a trabajar!

A mis amigos de la vida, Luciana, Ayelén, Daniela, Malena, Sonia, Marcelo, Luis, Erika y Cande, por estar siempre que los necesito, soy muy feliz de que la vida me haya cruzado con ustedes!

A mis Nonnas y a Bruno que me cuidan desde lejos (o muy cerca...) y a mis tíos y primos, los quiero mucho!

A Mario Beade, por permitirme sentirme en “Campos del Tuyu” como en casa y estar siempre bien predispuesto a seguir conociendo y aprendiendo de ese hermoso lugar.

A Walter, Gabriela Zarlavsky, Francisco Escaray y Fernando Lattanzi, Santiago Borghetti, por ayudarme de alguna forma a medir varias de las cosas que hoy forman parte de esta tesis.

Y en esta tesis le toco a Mia, por cábala...

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Publicaciones derivadas de la tesis:

- Di Bella CE, Jacobo E, Golluscio RA, Rodriguez AM. 2014. Effect of cattle grazing on soil salinity and vegetation composition along an elevation gradient in a temperate coastal salt marsh of Samborombón Bay (Argentina). *Wetland Ecology and Management* 22: 1-13.
- Di Bella CE, Striker GG, Escaray FJ, Lattanzi FA, Rodríguez AM, Grimoldi AA. 2014. Saline tidal flooding effects on *Spartina densiflora* plants from different positions of the salt marsh. Diversities and similarities on growth, anatomical and physiological responses. *Environmental and Experimental Botany*, 102: 27-36.

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT.....	XV

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Efectos del pastoreo sobre el suelo.....	5
1.2 Efectos del pastoreo sobre la vegetación.....	7
1.3 Respuestas ecofisiológicas a la inundación salina.....	10
1.4 Características del sitio de estudio.....	12
1.5 OBJETIVO GENERAL.....	20
1.5.1 Objetivo e hipótesis particulares.....	20

CAPÍTULO 2: Efecto del pastoreo continuo sobre la dinámica estacional de propiedades físicas y químicas del suelo a lo largo de un gradiente ambiental de estrés

2.1 INTRODUCCIÓN.....	23
2.2 METODOLOGÍA	
2.2.1 Sitio de muestreo.....	24
2.2.2 Suelo desnudo.....	24
2.2.3 Propiedades físicas del suelo.....	25
2.2.4 Propiedades químicas del suelo.....	26
2.2.5 Análisis estadísticos.....	27

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Suelo desnudo.....	28
2.3.2 Propiedades físicas del suelo.....	29
2.3.3 Propiedades químicas del suelo.....	33
2.4 DISCUSIÓN.....	35

CAPÍTULO 3: Efecto del pastoreo continuo sobre la comunidad vegetal de *Spartina densiflora* a lo largo de un gradiente ambiental de estrés

3.1 INTRODUCCIÓN.....	42
3.2 METODOLOGÍA	
3.2.1 Sitios de muestreo.....	44
3.2.2 Estudio de la vegetación	44
3.2.3 Índice de diversidad de especies.....	45
3.2.4 Índice de calidad forrajera.....	45
3.2.5 Análisis estadísticos.....	46
3.3 RESULTADOS	
3.3.1 Composición florística.....	47
3.3.2 Índices de diversidad.....	51
3.3.3 Calidad forrajera.....	53
3.4 DISCUSIÓN.....	53

CAPÍTULO 4: Efecto de los ciclos diarios de inundación salina sobre poblaciones de *Spartina densiflora*

4.1 INTRODUCCIÓN.....	59
------------------------------	-----------

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Sitio de estudio y material vegetal.....	60
4.2.2 Diseño experimental y condiciones de crecimiento.....	61
4.2.3 Estimación de biomasa y parámetros morfológicos.....	63
4.2.4 Anatomía de lámina y raíces.....	64
4.2.5 Mediciones fisiológicas.....	65
4.2.6 Análisis químicos e isotópicos.....	66
4.2.7 Análisis estadístico.....	67

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Biomasa y macollaje.....	68
4.3.2 Relaciones alométricas en la partición de biomasa, forma de la lámina y anatomía de la raíz.....	69
4.3.3 Verdor de láminas.....	75
4.3.4 Fluorescencia de la clorofila.....	76
4.3.5 Discriminación del ^{13}C	77
4.3.6 Concentración de iones en láminas.....	78

4.4 DISCUSIÓN

4.4.1 Partición de biomasa y cambios anatómicos en respuesta a la inundación salina intermitente.....	81
4.4.2 Diferencias en la regulación iónica, senescencia foliar y parámetros fisiológicos entre poblaciones.....	84

CAPÍTULO 5:

CONCLUSIÓN GENERAL.....	89
--------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA.....	100
--------------------------	------------

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1: Daños físicos esperados producidos por el pisoteo animal en función del contenido hídrico del suelo. Adaptado de Taboada et al (2011)	6
Tabla 1.2: Caracterización de la intensidad de pastoreo en distintas posiciones del gradiente.....	17
Tabla 2.2: Materia orgánica (MO, %) y pH de 0 a 15 cm en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados y pastoreados. Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.....	34
Tabla 3.1: Cobertura relativa de las especies (%) en la posición alta, media y baja para los sitios no pastoreados y pastoreados ^a	48
Tabla 3.2: Índices de diversidad de la vegetación en la posición alta, media y baja en sitios no pastoreados y pastoreados ^a	52
Tabla 4.1: Parámetros morfológicos de las láminas y raíces de plantas de <i>Spartina densiflora</i> provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días (ver las fotografías de la Fig. 4.5). Los valores son promedios \pm EE ($n = 20$). Se detectaron efectos de ISI para todas las variables evaluadas, según ANOVAs de dos vías ($P < 0.05$).....	75
Tabla 4.2: Concentración de iones y relación Na^+/K^+ en láminas jóvenes (panel superior) y láminas viejas (panel inferior) de plantas de <i>Spartina densiflora</i> provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n = 20$). Se presentan los valores F de los ANOVAs de dos vías. Los grados de libertad para cada fuente de variación fueron: 1 (Origen), 1 (Inundación), 1 (O x I) y 76 (error). Diferencias significativas: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ns, $P > 0.05$; basado en el test de LSD Fisher ($P < 0.05$). Distintas letras indican diferencias significativas cuando la interacción Origen x Inundación fue detectada.	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Marisma dominada por <i>Spartina densiflora</i> en bajamar.....	3
Figura 1.2: Detalle del sitio de estudio.(a) Ubicación de la Bahía de Samborombón; (b) Detalle de la Bahía de Samborombón y el Partido de Gral. Lavalle; (c) detalle de la ubicación de las transectas en el Partido de Gral. Lavalle. Línea inferior: Ruta 11. Los tres círculos superiores indican los sitios no pastoreados (ubicados en el PN “Campos del Tuyu”). Los tres círculos inferiores indican los sitios pastoreados (ubicados en un campo vecino). Fuente: Google Earth.....	13
Figura 1.3: Detalle de las características de la posición Alta, Media y Baja de las transectas identificadas en los sitios no pastoreados y pastoreados. Nótese en la posición baja el agua presente como consecuencia de la marea. Las fotos pertenecen a una de las transectas del sitio no pastoreado. Fuentes: Altura (m.s.n.m) y Profundidad de la capa freática (m), datos propios; Frecuencia de inundación, Cagnoni 1999.	16
Figura 2.1: Suelo desnudo (%) en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.....	28
Figura 2.2: Dinámica del contenido hídrico gravimétrico (CHG, %) del suelo en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E. La línea punteada indica el valor de humedad equivalente de la Serie Bahía de Samborombón.....	29
Figura 2.3: Relación entre densidad aparente (g.cm^{-3}) y contenido hídrico gravimétrico (CHG, %) de 0 a 5 cm (izquierda) y de 5 a 10 cm (derecha) para los sitios no pastoreados (NP, círculos llenos) y pastoreados (P, círculos vacíos).....	30
Figura 2.4: Dinámica de la densidad aparente del suelo (g.cm^{-3}) de 0 a 5 cm (panel superior) y de 5 a 10 cm (panel inferior) en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.....	31
Figura 2.5: Dinámica de la capacidad portante (MPa) en la posición alta, media y baja, para lo sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.	32
Figura 2.6: Dinámica de la capacidad portante llevada a humedad promedio constante ($\text{CP}_{\text{Hum prom}}$, MPa) en la posición alta, media y baja, para lo sitios no pastoreados (barras	

llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.....33

Figura 2.7: Dinámica de la conductividad eléctrica (dS.m^{-1}) de 0 a 15 cm (panel superior) y $>15\text{cm}$ (panel inferior) para la posición alta, media y baja en situaciones no pastoreadas (barras llenas) y pastoreadas (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P), inicio del verano (IV) y fin del verano (FV). Se muestran los valores promedio \pm E.E.....35

Figura 3.1: Ordenamiento (CA) de las distintas posiciones topográficas (Alto – Medio – Bajo) en los sitios no pastoreados y pastoreados. Especies cuya constancia fue menor al 5% fueron excluidas de la matriz de datos para evitar darle demasiado énfasis a las especies “raras”. Las especies están identificadas por las dos primeras letras del género seguidas por las dos primeras letras del epíteto (detalles en Tabla 3.1).....50

Figura 3.2: Índice de calidad forrajera (ICF) para la posición alta, media y baja en sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías). Los valores son promedios de cada tratamiento \pm E.E. Se indica: F-ratio, grado de libertad (gl) y el valor P para la posición topográfica (Pos), el pastoreo (Pas) y la interacción ($P*P$ = posición x pastoreo).....53

Figura 4.1: Esquema temporal sobre el proceso de obtención de las plantas para el experimento 3.....61

Figura 4.2: Detalle del experimento (a) y la simulación de la marea (b). Nótese en el panel b las plantas bajo el tratamiento de inundación salina intermitente (ISI) y el tratamiento control.....63

Figura 4.3: Biomasa de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n = 20$). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de LSD Fisher ($P < 0.05$).....69

Figura 4.4: Relaciones alométricas entre: (i) biomasa aérea vs. biomasa subterránea (a,b), (ii) biomasa de lámina vs. biomasa de vaina (c,d), y (iii) largo de lámina vs. largo de vaina (e,f) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,c,e) y del bajo (b,d,f) de la marisma sometidas a tratamientos de control (círculos vacíos) e inundación salina intermitente (ISI, círculos llenos) durante 60 días ($n = 20$). Nótese que cuando los parámetros entre las regresiones no difirieron, los datos se agruparon presentándose una línea de regresión común para ambos tratamientos. Todas las regresiones fueron significativas ($P < 0.01$) exceptuando la del tratamiento de ISI en (e).....71

Figura 4.5: Cortes de secciones de lámina y raíz de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,b,c,d) y del bajo (e,f,g,h) de la marisma sometidas a tratamientos de control (a,e,c,g) e inundación salina intermitente (ISI) (b,f,d,h) durante 60 días. La escala de las barras representan 200 μm para las láminas (a,b,e,f) y 100 μm para las raíces (c,d,g,h). Referencias: a, ángulo de apertura de la lámina; mE, mínimo espesor; ME, máximo espesor; ac, ancho de cresta; cb, células buliformes. Asteriscos indican el aerénquima.74

Figura 4.6: Verdor de láminas (unidades de SPAD) de láminas jóvenes y viejas de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a) y del bajo (b) de la marisma sometidas a tratamientos de control (C) e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n=10$). Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos para las láminas viejas para cada población según el test de Bonferroni ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las láminas jóvenes.....76

Figura 4.7: Fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m) (a,b) y la eficiencia cuántica (θ_{PSII}) (c, d) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,c) y del bajo (b,d) de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n=10$). Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos para cada población según el test de Bonferroni ($P < 0.05$).....77

Figura 4.8: Pérdida de CO_2 (Φ) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma estimada a partir de mediciones de discriminación de ^{13}C (Δ) en láminas jóvenes. La pérdida fue calculada usando la relación $\Phi = ((\Delta - 4.4) * C_a/C_i + 5.7 + 4.4) / 29$ para un rango de relación de CO_2 intercelular (C_i) / ambiental (C_a). Las plantas fueron sometidas a los tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n=10$).78

Figura 5.1: Esquema de los efectos del pastoreo (izquierda), la posición topográfica (derecha) y la interacción de ambos (dentro del triángulo invertido) sobre las propiedades físicas y químicas del suelo (abajo) y sobre la vegetación (arriba). CE_{0-15} : conductividad eléctrica del suelo en extracto de para los primeros 15 cm de profundidad.....92

Figura 5.2: Esquema de los principales efectos de la inundación salina intermitente (ISI) sobre las características morfogénicas y estructurales de las plantas determinantes del crecimiento. Cuadros verdes punteados identifican las variables que afectaron en mayor medida a la población del alto que a la del bajo. Cuadros azules continuos identifican a las variables afectadas de igual manera por al ISI entre poblaciones.....95

Efectos del pastoreo y la inundación salina en marismas dominadas por *Spartina densiflora*

RESUMEN

Las marismas son ecosistemas de pastizal ubicados en la interfase marino-terrestre, regulados por procesos físicos relacionados con la posición relativa en el relieve y los movimientos de las mareas. En los últimos años el corrimiento de la frontera agrícola llevó a la ganadería hacia estas áreas marginales, de alto valor intrínseco por brindar servicios ecosistémicos y ser sustento de una gran biodiversidad. El objetivo general de la tesis fue estudiar los efectos del pastoreo y las mareas sobre el suelo y la vegetación de estos ecosistemas en tres posiciones del gradiente topográfico: alto, medio y bajo. Se utilizó como sistema de estudio una marisma ubicada al sur de la Bahía de Samborombón. Se observó que el pastoreo ($0.6 \text{ animales.ha}^{-1}$) favoreció los procesos de compactación del suelo en todo el gradiente y aumentó la salinidad de las posiciones medias y bajas. Asimismo, modificó la composición florística en las posiciones altas y medias y disminuyó la calidad forrajera en todo el gradiente. Los cambios en la composición florística se debieron a una disminución en la cobertura de la especie dominante de la comunidad (*Spartina densiflora*) y de especies de alta calidad forrajera y un aumento de la cobertura de pastos rastreros y dicotiledóneas en la posición alta y de especies tolerantes a la salinidad en la posición media. A su vez, se encontraron poblaciones de la especie dominante *S. densiflora* localmente adaptadas a las posiciones altas y bajas en relación a la respuesta a ciclos diarios de inundación salina (simulando la marea). La población proveniente de la posición baja resultó más tolerante a la inundación salina al mantener una baja relación Na^+/K^+ , retrasar la senescencia y mantener la elongación de sus láminas. En conjunto, los resultados encontrados aportan nuevos conocimientos sobre la estructura y funcionamiento de ecosistemas de marisma en relación a los principales disturbios que las afectan. En el aspecto práctico, la información generada servirá como base para plantear objetivos de manejo sustentables compatibles con objetivos de producción y conservación.

Palabras claves: *Spartina densiflora* - pastoreo - pisoteo - marismas - inundación - salinidad - gradiente topográfico - variabilidad intraespecífica

Effects of cattle grazing and tidal flooding on salt marshes dominated by *Spartina densiflora*

ABSTRACT

Salt marshes are intertidal grasslands, regulated by physical processes such as the relative topographic position and tidal movements. In recent years, due to agriculture expansion, cattle were displaced to these marginal areas which are important for providing a high number of ecosystem services and livelihood for a large biodiversity. The aim of this thesis was to study the effects of cattle grazing and tidal flooding on soil and vegetation in three positions along the topographic gradient: higher, medium and lower. The study site was a salt marsh located in the south of the Samborombón Bay. Grazing ($0.6 \text{ animals.ha}^{-1}$) increased compaction of the soil throughout the entire gradient and increased soil salinity in the medium and lower positions. Also, changed the species composition in the higher and medium positions and decreased forage quality throughout the entire gradient. Changes in floristic composition were due to a decrease in the proportion of dominant species of the community (*Spartina densiflora*) and high quality forage species, and the increase of creeping grasses and dicotyledonous forbs in the higher position, and salinity tolerant species in the medium position. In turn, locally adapted populations from higher and lower positions of the dominant species, *S. densiflora*, were found in relation to saline intermittent flooding (simulating tides). Lowland population was more tolerant to saline flooding than upland population because was able to maintain a lower Na^+/K^+ ratio, delay senescence and maintain leaf length. Taken together, these results provide new knowledge about the structure and function of salt marsh ecosystems, in relation to their major disturbances. On a practical point of view, the information generated will be useful as a basis for developing sustainable management objectives, consistent with production and conservation objectives.

Key words: *Spartina densiflora* - grazing - trampling - salt marshes - flooding - salinity - topographic gradient - intraspecific variability

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los humedales son ambientes que desempeñan funciones ecológicas fundamentales como reguladores de los regímenes hidrológicos y hábitat de una fauna y flora característica, además de constituir un recurso de gran valor económico, cultural, científico y recreativo (Barbier et al. 2011). Dentro de estos ambientes, las marismas son ecosistemas de pastizal que se encuentran en la interfase marino-terrestre y, por lo tanto, están regulados por procesos físicos como la inundación y la salinidad (Mitsch y Gosselink 2008) (Fig. 1.1). Las inundaciones son producto de los movimientos periódicos de las mareas, que determinan una frecuencia de inundación mayor a medida que disminuye la elevación topográfica respecto al nivel del mar. La salinidad, en cambio, no sólo depende de las inundaciones proveniente de las mareas (mezcla de agua de mar con agua dulce proveniente de canales continentales y ríos) sino también de los procesos de disolución y acumulación de sales en las aguas subterráneas (Carol et al. 2009). Esto determina que la profundidad de la capa freática afecte de manera distinta el nivel de salinidad de los suelos a lo largo del gradiente.

El desarrollo de estos ecosistemas de marismas depende principalmente de procesos de sedimentación (producto del movimiento y deposición de sedimentos sobre la superficie). La combinación de los distintos suministros de sedimentos determina el desarrollo de la marisma (Doody 2008). Por otro lado, la tasa de sedimentación va a depender principalmente de la densidad de la vegetación presente (capaz de retener los sedimentos), la altura respecto al nivel del mar y la distancia al margen del río o canal de marea (que determina la frecuencia de inundación) (Chapman 1974). A medida que los sedimentos se acumulan, aumenta la elevación de la costa evitando la inundación de la misma por períodos más largos de tiempo. Este proceso permite el establecimiento de especies halófitas pioneras como *Salicornia* o *Spartina* (Chapman 1974; Boorman 2003). Por lo tanto, el suministro de estos sedimentos y la habilidad de las plantas de

tolerar la inundación de las mareas, son los factores determinantes del desarrollo de estos ecosistemas. Esto determina que a lo largo de la elevación topográfica se desarrolle una zonificación de especies (Bertness 1991; Castillo et al. 2000; Costa et al. 2003; Pennings et al. 2005; Isacch et al. 2006). Las posiciones más bajas son colonizadas por pocas especies con elevada tolerancia a la inundación salina, mientras que las posiciones más altas son colonizadas por un mayor número de especies menos tolerantes al estrés, siendo la competencia entre estas determinante de la comunidad vegetal (Ranwell 1972; Chapman 1974). Además, estos ambientes también son importantes sumideros de carbono debido a su alta productividad, especialmente aquellas marismas dominados por *Spartina* spp. ($1995 \text{ g m}^{-2} \text{ año}^{-1}$) (Trilla et al. 2010; Sousa et al. 2010).



Figura 1.1: Marisma dominada por *Spartina densiflora* en bajamar.

La mayoría de las marismas del mundo están influenciadas por la actividad humana. Entre las actividades antrópicas más comunes realizadas en estos ambientes podemos mencionar: a) el manejo tradicional de estos ambientes, que incluye: pastoreo de especies nativas e introducidas, cosecha de material vegetal (e.g. *Phragmites*

australis para la confección de techos, canastas, etc.), el uso de *Salicornia* para consumo animal y humano y la confección de heno; b) la realización de excavaciones (para el corte de césped en ambientes intensamente pastoreados o para la extracción de sedimentos como arcilla); c) la realización de diques y terraplenes (que evitan el ingreso de la marea y la sedimentación, permitiendo la realización de otras actividades agrícolas, como el cultivo de arroz, y ganaderas) (Doody 2008; Bertness et al. 2002; Boorman 2003; Gedan et al. 2011). Todas estas actividades, en mayor o menor medida, perturban el hábitat de las marismas. Se estima que, en relación a otros tipos de humedales o ecosistemas costeros (*i.e.* manglares, arrecifes de coral, etc), las marismas son las más afectadas por la actividad humana. Casi un 50% de las marismas del mundo se están perdiendo o degradando por el aumento en la intensidad de la actividad antrópica (Millenium Ecosystem Assessment 2005 en Barbier et al. 2011). Asimismo, debido a su ubicación en la interfase marino-terrestre, estos sistemas son vulnerables a distintos disturbios naturales: ascenso del nivel del mar, procesos de sedimentación, tormentas, cambio climático y eventos climáticos extremos (Michener et al. 1997; Boorman 2003).

En Argentina las marismas ubicadas en la Bahía de Samborombón han sido esporádicamente pastoreadas a una baja carga debido a la baja calidad o palatabilidad del recurso forrajero presente. Sin embargo, en la última década, debido a la expansión de la agricultura, la ganadería se corrió hacia estas zonas marginales aumentando la presión de pastoreo. Esto también fue posible por el uso de otras prácticas de manejo como el fuego prescripto a finales del otoño para eliminar la biomasa seca de bajo valor forrajero y favorecer el rebrote y el crecimiento de especies de mejor calidad (Nasca 2001; Marino 2008). Por lo tanto, teniendo en cuenta que el pastoreo y las mareas son factores relevantes que afectan a estas marismas, esta tesis pretende generar

conocimientos novedosos sobre sus efectos en estos ecosistemas de importancia internacional.

1.1 Efectos del pastoreo sobre el suelo

El pastoreo es un disturbio que afecta marcadamente las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos en ambientes de pastizal (Taboada et al. 2011). Las propiedades físicas del suelo son específicamente afectadas por efectos atribuibles al aumento en la proporción de suelo desnudo y al pisoteo provocado por este disturbio. Estos dos factores pueden, aunque no siempre, generar una disminución en la porosidad del horizonte superficial y, consecuentemente, un aumento en la densidad aparente y la capacidad portante y una disminución en la tasa de infiltración (Lavado y Taboada 1987; Taboada 2005; Taboada y Lavado 1993). La presencia de suelo desnudo promueve el escurrimiento superficial del agua, lo cual se ve agravado por la pérdida de macroporos (Alderfer y Robinson 1947; Johnston 1962). Sin embargo, la magnitud del efecto del pastoreo sobre las propiedades físicas del suelo depende de su contenido hídrico, siendo en general peor el efecto a medida que aumenta la humedad del suelo (Mulholland y Fullen 1991; Warren et al. 1986) (Tabla 1.1). En suelos secos o con bajo contenido hídrico, el daño estructural se produce porque el pisoteo fragmenta los agregados del suelo en los horizontes superiores (Warren et al. 1986; Taboada et al. 1999). Cuando el suelo está húmedo, el pisoteo del ganado genera un proceso de compresión debajo de la pezuña (Scholefield et al. 1985), destruyendo así los macroporos (Warren et al. 1986; Taboada y Lavado 1993). De este modo, aumenta la densidad aparente dando lugar a procesos de compactación superficial del suelo (Willatt y Pullar 1983; Greenwood y McKenzie 2001). En cambio, el pisoteo sobre suelos en condiciones de saturación hídrica genera un amasado o “*poaching*” alrededor

de la pezuña (Mullins y Fraser 1980), que en condiciones de pisoteo reiterado genera huellas de gran profundidad (Mulholland y Fullen 1991). Se observó que este proceso puede ser revertido por los ciclos de humedecimiento-secado, en función de la resiliencia del suelo: los daños serán de menor duración en aquellos suelos donde los ciclos de humedecimiento-secado promuevan la recuperación de la porosidad dañada por el pisoteo (Taboada et al. 1999; Taboada y Lavado 1993; Greenwood y McKenzie 2001; Taboada et al. 2001; Taboada 2007).

Tabla 1.1: Daños físicos esperados producidos por el pisoteo animal en función del contenido hídrico del suelo. Adaptado de Taboada et al (2011).

	Seco	Húmedo	Saturado	Encharcado
Daño esperado	ruptura de agregados	compactación	amasado	no efecto
Profundidad	< 5 cm	< 10 cm	hasta 20 cm	0
Densidad aparente	no efecto	aumenta	aumenta/disminuye	no efecto
Macroporosidad	no efecto	disminuye	disminuye	no efecto
Capacidad portante	no efecto	aumenta	disminuye	no efecto
Tasa de Infiltración	puede disminuir	disminuye	disminuye	no efecto
Estabilidad estructural	disminuye	disminuye	disminuye	aumenta

En relación a las propiedades químicas del suelo, el pastoreo produce efectos reconocibles sobre la materia orgánica y los ciclos de algunos nutrientes, como nitrógeno y fósforo (Taboada et al. 2011). El efecto del pastoreo sobre el contenido de materia orgánica del suelo ha mostrado resultados contradictorios (Marrs et al. 1989; Frank et al. 1995; Chaneton y Lavado 1996; Henderson et al. 2004; Altesor et al. 2006). Esto se debe a que el pastoreo puede afectar el contenido de materia orgánica del suelo a partir de cambios en la cantidad y calidad del material vegetal que ingresa al mismo, pero también a partir de cambios en la estructura del pastizal que pueden llegar a modificar las condiciones de temperatura y humedad del suelo (Sala et al. 1986, Parton et al. 1987). Sin embargo, en ambientes con capa freática y salinidad elevadas, el

mayor riesgo es el agravamiento de los procesos de salinización y sodificación superficial (Lavado y Taboada 1987, 1988, Alconada et al. 1993). Este proceso obedece a las mayores tasas de evaporación desde superficies con suelo desnudo, que facilitan el flujo ascendente de sales solubles desde capas profundas con aguas subterráneas salinas, aumentando la conductividad eléctrica del suelo (Lavado y Taboada 1987, 1988; Dreccer y Lavado 1993; Lavado y Alconada 1994).

Debido a que las marismas presentan un gradiente topográfico con distintos niveles de humedad, proporción de suelo desnudo y profundidad de la napa, se esperaría una respuesta diferencial del suelo al pastoreo en cada posición. Por otro lado, conocer la variabilidad estacional de las propiedades físicas y químicas del suelo en estas marismas, y el efecto del pastoreo sobre las mismas, aporta información que no se conoce hasta el momento y que es de gran importancia para evitar la degradación y promover un uso sustentable de estos ambientes (tema a desarrollar en Capítulo 2).

1.2 Efectos del pastoreo sobre la vegetación

Si bien existe vasta información sobre el efecto del pastoreo sobre la vegetación de sistemas naturales, la mayoría de los estudios fueron realizados sobre ambientes semi-áridos (Milchunas et al. 1989; Perelman et al. 1997; Ritchie et al. 1998; Golluscio et al. 2009; Tessema et al. 2011, entre otros) y sub-húmedos o húmedos no costeros (Sala et al. 1986; Chaneton et al. 1988; Facelli 1988; Chaneton y Facelli 1991; Augustine y McNaughton 1998; Collins et al. 1998, entre otros) existiendo muy poca bibliografía acerca efecto del pastoreo sobre ecosistemas de marismas. La mayoría de los estudios realizados sobre estos ecosistemas fueron en marismas templadas europeas principalmente pastoreadas por ovejas sobre una comunidad dominada por *Puccinellia maritima*, pero no hay información sobre el efecto del pastoreo bovino sobre

comunidades dominadas por *Spartina*, que es el género dominante en la mayoría de las marismas de Sudamérica y también está presente en muchas marismas del mundo (Bortolus 2006; Isacch et al. 2006). A modo general se conoce que la intensidad del pastoreo afecta la diversidad y la composición de especies de manera diferencial dependiendo de la historia de pastoreo (co-evolución de las especies vegetales con el pastoreo) y de las precipitaciones o productividad del ambiente en cuestión, siendo mayores los cambios en la composición florística en los extremos húmedos o más productivos y con corta historia de pastoreo (Milchunas y Lauenroth 1993; Oesterheld y Semmartin 2011). A modo de ejemplo se observó que en pastizales de la Pampa Deprimida (ambiente húmedo con corta historia de pastoreo) el pastoreo produce una disminución en la dominancia de determinadas especies del pastizal (gramíneas erectas) y, consecuentemente, un aumento en la riqueza de especies por la aparición de especies nativas subordinadas (gramíneas rastreras estivales) y la incorporación de especies exóticas (principalmente dicotiledóneas invernales) (Rusch y Oesterheld 1997). Algo similar ocurre en pastizales de Uruguay, en donde el pastoreo también aumenta la diversidad y riqueza de especies como resultado de la disminución de la cantidad de material muerto en pie y la consecuente liberación de recursos, que promueve un aumento en la cobertura de especies nativas subordinadas (Altesor et al. 2005).

Por otro lado, varios estudios demuestran que el pastoreo genera un efecto diferente entre comunidades vegetales presentes en un mismo paisaje o a lo largo de gradientes ambientales de estrés. Por ejemplo, en la Pampa Deprimida, se halló que las praderas húmedas de mesófitas (presentes en los planos tendidos) y la pradera de higrófitas (presente en los bajos dulces) respondieron de manera distinta al pastoreo continuo (Sala et al. 1986; Perelman et al. 2001; Jacobo et al. 2006). En los planos tendidos, especies leguminosas y gramíneas invernales anuales y perennes preferidas

por los herbívoros disminuyeron su cobertura, mientras que las gramíneas estivales rastreras aumentaron. En cambio, en los bajos dulces, el efecto del pastoreo se manifestó solamente en los años secos, disminuyendo las especies higrófitas (juncáceas) y aumentando la cobertura relativa de herbáceas y pastos rastreros estivales (Jacobo et al. 2006). En el mismo trabajo, a su vez, se observó que la diversidad de especies fue mayor en los planos tendidos que en los bajos dulces, debido a que en estos últimos sólo pueden crecer especies tolerantes a la inundación. Asimismo, la diversidad y la riqueza de especies no fueron afectadas por el pastoreo, debido a que este indujo un reemplazo de especies en la comunidad, pero no una disminución en la cobertura del suelo. Asimismo, a lo largo de un gradiente de estrés/fertilidad el pastoreo promueve un aumento en la cobertura de especies exóticas solo en sitios de fertilidad intermedia, debido a que en estos sitios las especies exóticas tienen más posibilidad de establecerse. En cambio, en los extremos más estresantes sólo algunas especies nativas adaptadas a la condición limitante fueron capaces de sobrevivir (Chaneton et al. 2002). Además, el pastoreo aumenta la riqueza de especies y reduce la heterogeneidad de la vegetación a escala de paisaje debido a que promueve el crecimiento de las mismas especies herbáceas invernales tanto en los sitios altos como en los sitios bajos, mientras que la ausencia de pastoreo promueve el crecimiento de especies distintas en cada sitio (Chaneton et al. 2002).

Muchas de las respuestas mencionadas anteriormente, a su vez, están relacionadas a la pérdida de especies palatables o de alto valor forrajeo (*e.g.* gramíneas invernales erectas y leguminosas) debido a la selectividad del animal en sistemas bajo pastoreo continuo. Esto se debe a que el pastoreo continuo permite consumir los rebrotes de especies preferidas de alto valor forrajero hasta provocar la pérdida de la misma en el tapiz. Las especies extinguidas localmente debido al pastoreo continuo

pueden ser reemplazadas por especies de menor calidad (*e.g.* dicotiledóneas) o por especies capaces de evadir al pastoreo (*e.g.* gramíneas estivales rastreras), disminuyendo por cualquiera de esas vías el valor forrajero del sistema (Chaneton et al. 1988; Deregibus et al. 1995; Rusch y Oesterheld 1997; Jacobo et al. 2006).

En base a la información general sobre los efectos del pastoreo en pastizales naturales, es esperable encontrar una respuesta diferencial al pastoreo a lo largo del gradiente ambiental de estrés presente en las marismas bajo estudio. Esta información, junto con la generada en el capítulo 2, es útil para el futuro diseño de estrategias de manejo del ganado con el fin de lograr simultáneamente objetivos de producción y conservación de estas marismas (tema a desarrollar en Capítulo 3).

1.3 Respuestas ecofisiológicas a la inundación salina

Spartina densiflora Brong. es la especie dominante de la comunidad vegetal en muchos ecosistemas de marisma en el mundo (Bortolus 2006; Isacch et al. 2006). *S. densiflora* es una gramínea con metabolismo fotosintético C₄, nativa, perenne, rizomatosa, de ciclo primavera-estivo-otoñal (Vicari et al. 2002; Bortolus 2006) y es considerada una especie halófito por tener la capacidad de completar su ciclo de vida en ambientes donde la concentración de sal alcanza más de 200 mM NaCl (Flowers y Colmer 2008). Sin embargo, puede estar presente, e incluso dominar, a lo largo de un gradiente topográfico y de estrés muy amplio. Esto podría deberse a que la especie posea ecotipos adaptados a cada ambiente, o bien, a que la especie cuente con una gran plasticidad fenotípica frente a los factores de estrés a los que está sometida (Bradshaw 1965). En otras comunidades de pastizal no costeras, se ha demostrado que distintas poblaciones de una misma especie pueden variar su respuesta frente a distintos factores de estrés. Tal es el caso encontrado para tres poblaciones de *Paspalum dilatatum* que habitan en distintas

posiciones del gradiente topográfico (alto, medio y bajo) sometidas a distintos niveles de estrés hídrico (inundación, sequía y control) (Loreti y Oosterheld 1996).

Como se mencionó anteriormente, *S. densiflora* tolera tanto la inundación como la salinidad debido a que posee mecanismos anatómicos y morfológicos que se lo permiten. Dentro de estos mecanismos podemos mencionar la presencia de aerénquima, que es un tejido parenquimático con grandes espacios intercelulares que favorecen el movimiento de oxígeno hacia las partes vegetales que se encuentran sumergidas (Armstrong 1979; Perazzolo y Pinheiro 1991). Asimismo, posee glándulas secretoras de sal, estomas protegidos, alta lignificación en hojas, rizomas y raíces y enrollamiento foliar (Perazzolo y Pinheiro 1991; Bastos et al. 1993; Maricle et al. 2009), aspectos que le permiten controlar el ajuste osmótico de las células y disminuir la transpiración. En relación con la respuesta ecofisiológica de *S. densiflora* a la inundación salina, se ha demostrado que la respuesta fotosintética se ve afectada negativamente por la salinidad y la inundación, lo cual lleva a una disminución en el crecimiento (Nieva et al. 2003; Mateos-Naranjo et al. 2007). Esta disminución en el crecimiento también estaría influenciada por la acumulación de iones tóxicos (principalmente Na^+ y Cl^-) en los tejidos de las plantas producto de un mal funcionamiento en el transporte de iones de la membrana como consecuencia del desbalance energético producido por el estrés (Cooper 1982; Barrett-Lennard 2003; Colmer y Flowers 2008; Flowers y Colmer 2008).

Estudiar la respuesta ecofisiológica de individuos de *S. densiflora* provenientes de posiciones más elevadas y más bajas de la marisma, en relación al efecto de la marea, permite describir los mecanismos fisiológicos relacionadas a la supervivencia, crecimiento, distribución y abundancia, bajo las condiciones de estrés a la que se encuentra sometida (Lambers et al. 2008). De esta manera, se brindará información útil para realizar inferencias sobre el funcionamiento de estos ecosistemas y determinar la

presencia de poblaciones localmente adaptadas, lo cual hasta el momento no ha sido evaluado (tema a desarrollar en Capítulo 4).

1.4 Características del sitio de estudio

Las marismas utilizadas para llevar a cabo los experimentos de esta tesis se ubican al sur de la Bahía de Samborombón, en el partido de General Lavalle (Fig. 1.2). La importancia de estos ambientes radica en que la Bahía de Samborombón fue declarada en 1997 “sitio Ramsar”, lo cual lo convierte en un humedal de importancia internacional en el que se debe promover la conservación y el uso racional del mismo y de sus recursos (Secretaría de la Convención Ramsar 2006). Su status de “sitio Ramsar” obedece a que es un hábitat valioso para aves migratorias y para la conservación del venado de las Pampas (*Ozotocerus bezoarticus celer*), que se encuentra en grave peligro de extinción (Fernández et al. 2004; Miñaro y Bilenca 2008). La Bahía de Samborombón se encuentra en el margen este del estuario del Río de la Plata y se extiende a lo largo de 2.440 km², desde Punta Piedra (35° 27' S, 56° 45' W) hasta Punta Rasa (36° 17' S, 56° 46' W). Este ambiente se caracteriza por tener un sistema hidrológico superficial con un leve gradiente topográfico que origina una red de drenaje influenciada por las fluctuaciones de la marea (Carol et al. 2008). Las mareas son mixtas (durante un día lunar se presentan dos pleamares y una bajamar o dos bajamares y una pleamar), predominantemente semidiurnas, con rangos de marea menores a 2 m (Servicio Hidrográfico Naval, 2008). La marea que viene del Atlántico sur, entra al Río Ajó y a los numerosos canales de marea distribuidos por toda la superficie (Carol et al. 2009) y la intensidad de la misma puede variar en relación a la estación y las condiciones climáticas (Servicio Hidrográfico Naval 2008). El agua de marea contiene

NaCl (Carol et al. 2008) con una conductividad eléctrica promedio de $ca. 26 \pm 0.3 \text{ dS m}^{-1}$.

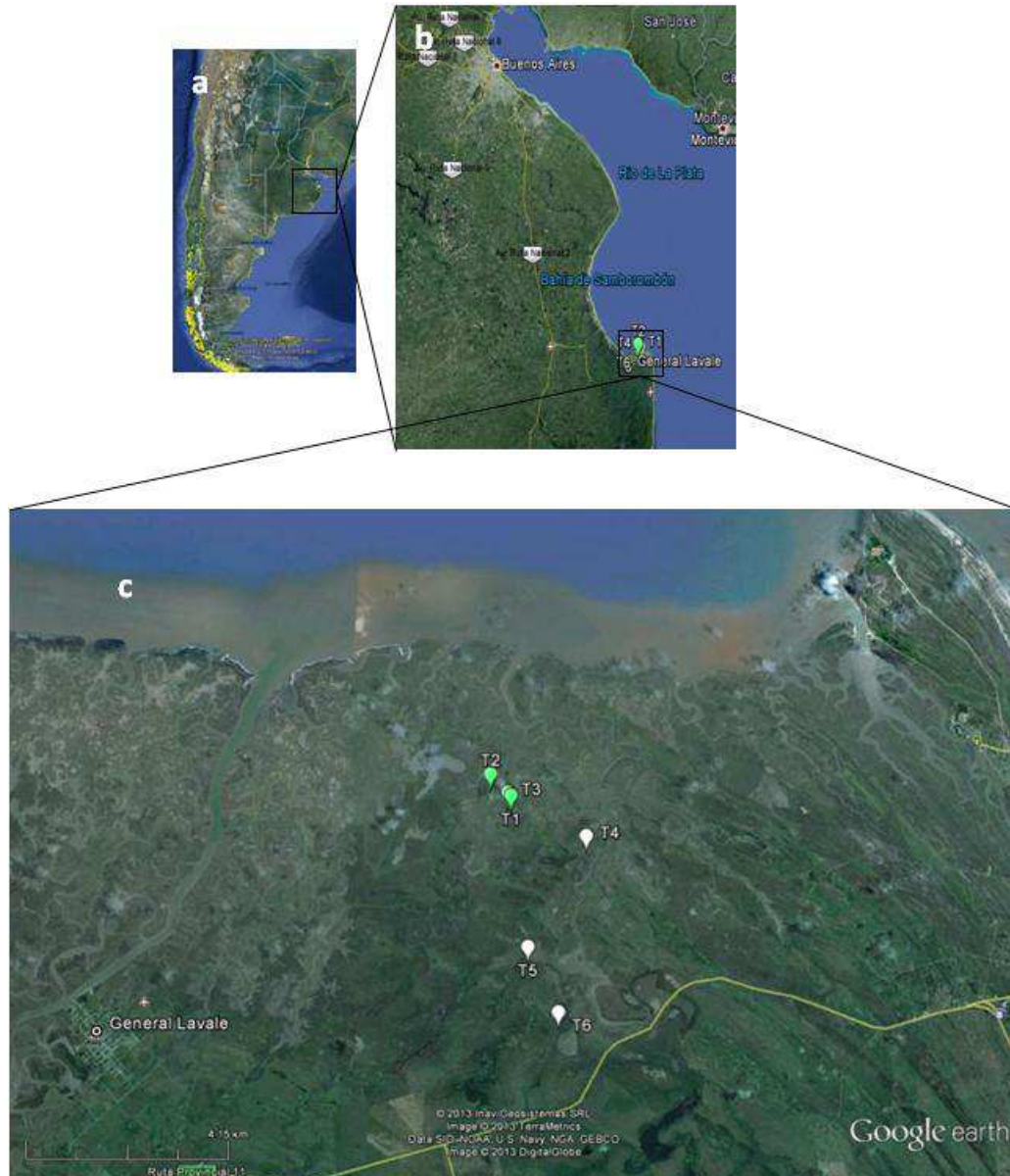


Figura 1.2: Detalle del sitio de estudio. (a) Ubicación de la Bahía de Samborombón; (b) Detalle de la Bahía de Samborombón y el Partido de Gral. Lavalle; (c) detalle de la ubicación de las transectas en el Partido de Gral. Lavalle. Línea inferior: Ruta 11. Los tres círculos superiores indican los sitios no pastoreados (ubicados en el PN “Campos del Tuyu”). Los tres círculos inferiores indican los sitios pastoreados (ubicados en un campo vecino). Fuente: Google Earth.

El clima es sub-húmedo a húmedo, mesotérmico, con escasa a nula deficiencia de agua. La temperatura y precipitación promedio anual de los últimos 30 años son de 15.2 °C y 982 mm respectivamente, registrándose el mínimo valor de precipitación en el año 1995 (522 mm) y el máximo el año 1993 (1405 mm). El relieve es plano, con una pendiente de 0.01% y una altura promedio de 1.6 m sobre el nivel del mar (Carol et al. 2008). Los suelos dominantes son Natrudertes y Pelludertess (Orden Vertisoles, US Soil Taxonomy). Se caracterizan por tener textura arcillosa, con arcillas expansibles de tipo esmectítico, baja permeabilidad y permanecen húmedos la mayor parte del año (Damiano 2009; INTA 2013). La profundidad del horizonte superficial (horizonte A) es de aproximadamente 15 cm, seguida de un horizonte B fuertemente arcilloso.

La comunidad vegetal más extendida en estas marismas es la comunidad de *Spartina densiflora*, que cubre más del 50% del área (Vervoorst 1967; Cagnoni y Faggi 1993; Isacch et al. 2006). Esta comunidad está dominada por *S. densiflora*, asociada con *Sarcocornia perennis*, *Juncus acutus*, *Cortaderia selloana* y, en menor proporción, con *Apium sellowianum*, *Limonium brasiliense*, *Distichlis spicata* y *Malvella leprosa* (Cagnoni y Faggi 1993). La comunidad de *S. densiflora* está presente tanto en las posiciones altas como en las medias y bajas del gradiente topográfico (Bortolus 2006). Sin embargo, los cambios en la composición florística y la cobertura relativa de las especies a lo largo del gradiente bajo estudio no han sido descriptos hasta el momento. Otras dos comunidades presentes en estas marismas son la comunidad mono-específica de *Spartina alterniflora* y la comunidad mono-específica de *Sarcocornia perennis*, ubicadas en las zonas más bajas intermareales y expuestas a períodos de inundación extensos (Cagnoni 1999).

En el área bajo estudio también existe la presencia de otros herbívoros no domésticos como ser el venado de las Pampas (*Ozotoceros bezoarticus*) y el ñandú

(*Rhea americana*), sin embargo, el tamaño de la población de ambos es pequeño como para causar algún impacto importante sobre la vegetación y el suelo (Fernandez et al. 2004; Vila et al. 2008). En cambio, un importante bioingeniero de este sistema es el cangrejo cavador *Neohelice granulata*. Este macroinvertebrado tiene la capacidad de disminuir la dureza del suelo, la tasa de percolación (disminuyendo el contenido hídrico del suelo y favoreciendo la oxigenación de raíces) y la abundancia de meiofauna, y distribuir de manera homogénea la materia orgánica del suelo. Asimismo, posee efectos directos e indirectos sobre *S. densiflora*, ya que por un lado se observó que favorece la reproducción sexual de esta especie (aumenta la producción y viabilidad de las semillas), mientras que por otro lado, los orificios que realiza en el suelo beneficia la oxigenación de raíces en ambientes donde predominan las condiciones de anoxia, lo cual favorece al crecimiento de las plantas (Bortolus e Iribarne 1999; Bortolus et al. 2004; Daleo e Iribarne 2009; Xin et al. 2009).

Como se mencionó anteriormente, se puede identificar un gradiente ambiental de estrés dentro de la marisma, determinado principalmente por la frecuencia de inundación y el nivel de salinidad de los suelos (Fig. 1.3). En el presente estudio se determinaron tres posiciones a lo largo del gradiente: alto, medio y bajo. La posición alta se encuentra a 0.8 m.s.n.m, la posición media a 0.7 m.s.n.m y la baja a 0.6 m.s.n.m (según cálculo satelital de www.altitude.nu). La posición alta se inunda sólo una o dos veces por año, durante los equinoccios de primavera y otoño; la posición media se inunda una o dos veces por mes, coincidiendo con la ocurrencia de la luna llena y nueva, y la posición baja se inunda una o dos veces por día (Cagnoni 1999). La salinidad del suelo a lo largo del gradiente topográfico también depende de la profundidad a la que se encuentra la capa freática y la concentración de sales del agua subterránea (Carol et al. 2009). La profundidad de la napa medida a campo a fines del

verano (marzo) se encontró aproximadamente a los 0.5 m, 0.4 m y 0.3 m de profundidad en la posición alta, media y baja respectivamente (datos propios).

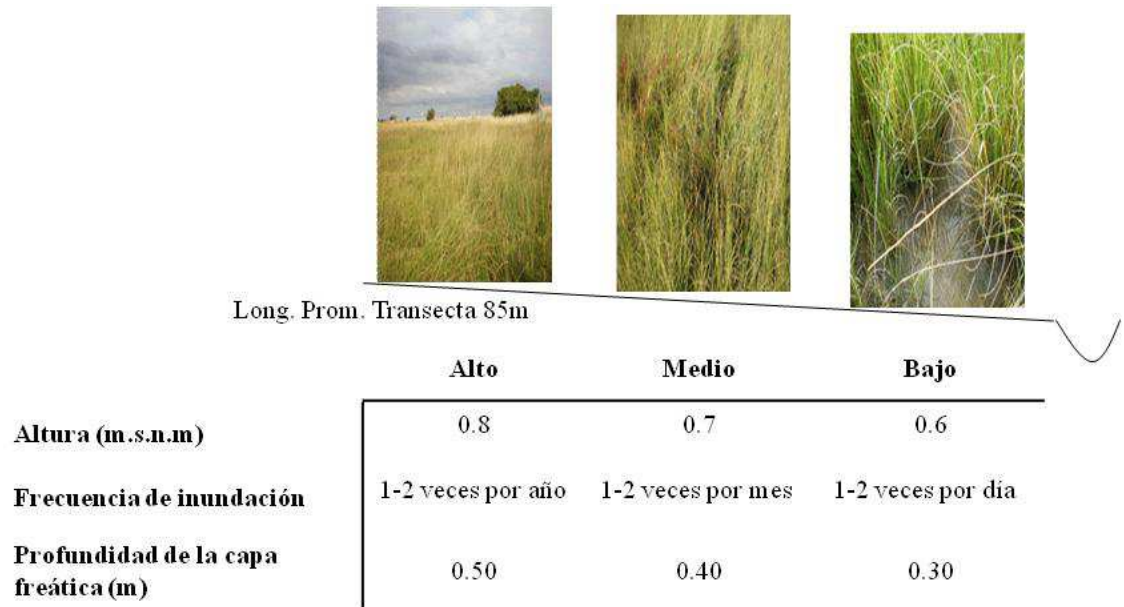


Figura 1.3: Detalle de las características de la posición Alta, Media y Baja de las transectas identificadas en los sitios no pastoreados y pastoreados. Nótese en la posición baja el agua presente como consecuencia de la marea. Las fotos pertenecen a una de las transectas del sitio no pastoreado. Fuentes: Altura (m.s.n.m) y Profundidad de la capa freática (m), datos propios; Frecuencia de inundación, Cagnoni 1999.

Para la realización de los experimentos de los capítulos experimentales de la tesis, en el área bajo estudio, se identificaron tres transectas (cada una incluía las tres posiciones mencionadas anteriormente) en un sitio no pastoreado y tres transectas en un sitio pastoreado (Fig 1.2). De esta manera quedaron determinadas seis situaciones (pastoreado-no pastoreado x alto-medio-bajo) con tres repeticiones cada una ($n=3$) y un total de 18 unidades experimentales (Fig. 1.2). El sitio no pastoreado fue seleccionado dentro del Parque Nacional “Campos del Tuyu” (3000 ha, 36° 19' S, 56° 50' O) en el cual el pastoreo fue excluido desde 1979. El sitio pastoreado fue seleccionado en un campo vecino (1650 ha) en el cual se lleva a cabo la actividad de cría de ganado durante

al menos 50 años, mediante pastoreo continuo y con una carga aproximada de 0.6 animales.ha⁻¹. Cabe aclarar que las situaciones de alto, medio y bajo están presentes dentro de un mismo potrero en el sitio pastoreado, por lo tanto es muy difícil determinar la intensidad de pastoreo en cada posición. De todos modos, para estimar de alguna forma esta variable se cuantificó en cada posición la altura de matas de *S. densiflora* no pastoreada y pastoreada, la cantidad de bostas vacunas por metro lineal y el porcentaje de matas comidas de *S. densiflora*. Asimismo, en la posición alta, por poseer otra estructura de vegetación, se midió la altura de los pastos cortos (Tabla 1.2). Si bien se pudo observar que los sitios altos son utilizados por los animales como dormitorios, el porcentaje de matas comidas de *S. densiflora* tiende a ser mayor en el sitio medio y bajo indicando que los animales también transitan y consumen forraje en esas posiciones. El porcentaje de matas de *S. densiflora* comidas del sitio alto puede ser menor debido a que los animales poseen otras especies para consumir, a diferencia de las posiciones media y baja donde predomina ampliamente *S. densiflora*. Asimismo, el porcentaje de bosteo tiende a ser menor en la posición baja debido a que podría ser diluido por la marea. Esto determina la complejidad de estimar la intensidad de pastoreo en este ambiente pero confirma la actividad del pastoreo en los sitios medios y bajos. De todos modos esta tesis tiene como objetivo evaluar el efecto del pastoreo *per se*, como efecto general sobre estos ambientes y en base al manejo que se realiza del mismo, independientemente de la intensidad en cada posición.

Tabla 1.2: Caracterización de la intensidad de pastoreo en distintas posiciones del gradiente.

	Alto	Medio	Bajo
Altura de matas de <i>S. densiflora</i> no pastoreadas (cm)	79	43	62.5
Altura de matas de <i>S. densiflora</i> pastoreadas (cm)	38.5	14.5	15
Altura de pastos cortos entre matas de <i>S. densiflora</i> (cm)	2.75	-	-
Bosteo (bosta/m lineal)	1.3	0.8	0.2
Matas comidas de <i>S. densiflora</i> (%)	31.2	51.7	41.7

En Ecología Experimental existen dos clases de experimentos: manipulativos y mensurativos (Hulbert 1984). En la “experimentación manipulativa”, el investigador manipula alguna variable de interés de una manera controlada, manteniendo el resto de las variables constantes. Esto permite atribuir las diferencias observadas a esa variable determinada (relación causal). En cambio, en los experimentos mensurativos, el investigador observa o muestrea el sistema en el espacio o tiempo, siendo estas las únicas variables experimentales o tratamientos. Esto hace que puedan existir otras variables que estén afectando el sistema, además de aquella que queremos evaluar lo cual interfiere en la interpretación de los resultados. Sin embargo, muchas veces, en sistemas naturales resulta muy difícil de implementar experimentos manipulativos debido a que no siempre se puede asignar al azar los tratamientos en las unidades experimentales (especialmente cuando queremos estudiar eventos naturales en un determinado lugar), o al querer hacerlo las respuestas biológicas a un determinado tratamiento puede tardar varios años o décadas en expresarse (Diamond 1986; McGarigal y Cushman 2002). Por estas razones en general se realizan experimentos mensurativos o también llamados “naturales”, aún sabiendo que estos poseen una mayor cantidad de variables independientes no controladas que pueden limitar la inferencia de los resultados a los efectos de los tratamientos y que la igualdad entre los sitios control y tratados no sea tan precisa. Sin embargo, poseen numerosas ventajas, ya que maximizan la escala temporal y espacial, son realistas y en muchos casos generalistas (Diamond 1986). En una revisión realizada por McGarigal y Cushman (2002) en la que comparan ambos enfoques experimentales en el estudio del efecto de la fragmentación de ambientes naturales, concluyen que el mejor enfoque dependerá de la pregunta que nos queremos responder, el sistema que estemos estudiando y las limitantes socioeconómicas presentes. Si bien los experimentos manipulativos nos permiten hacer

inferencias causa-efecto más fuertes, los experimentos mensurativos comparativos son una alternativa válida si están bien diseñados, y esto incluye, entre otras cosas, controlar las variaciones ambientales (suelo, vegetación, clima, etc.) entre los sitios que queremos comparar y así reducir las fuentes de variación externas al tratamiento (Stewart-Oaten et al. 1986; Underwood 1992). En el caso del capítulo experimental 1 y 2 de esta tesis, como en muchos otros trabajos realizados sobre el efecto del pastoreo en sistemas naturales (Bakker y Ruyter 1981; Bakker 1985; Bos et al. 1985; Sala et al. 1986; Milchunas et al. 1989; Andresen et al. 1990; Chaneton y Lavado 1996; Zhang y Horn 1996a, b; Greenwood y McKenzie 2001; Bouchard et al. 2003; Kleyer et al. 2003; Altesor et al. 2005, 2006; Taboada et al. 2011), también hemos realizado experimentos de tipo mensurativos al no haber manipulado de manera controlada al pastoreo. Sin embargo, al saber que el ambiente entre los sitios no pastoreados y pastoreados es el mismo, estaríamos disminuyendo la variabilidad o el posible efecto confundido del pastoreo. No obstante, somos conscientes que dada la naturaleza del experimento, con los resultados obtenidos solo se puede concluir que existe una relación entre la presencia/ausencia del ganado y los patrones de las variables observadas pero no necesariamente a una relación causal o de causa-efecto.

1.5 OBJETIVO GENERAL

El **objetivo general** de la tesis es contribuir al desarrollo del conocimiento sobre el efecto del pastoreo y la inundación salina sobre ecosistemas de marismas.

1.5.1 Objetivos e hipótesis particulares

Objetivo 1: Estudiar el efecto del pastoreo continuo sobre propiedades físicas y químicas del suelo, a lo largo de un gradiente ambiental de estrés, y su efecto sobre la dinámica estacional de esas propiedades.

Hipótesis 1.1: La alteración/degradación física y química del suelo por efecto del pastoreo son más severas en las posiciones más bajas del gradiente topográfico debido al mayor contenido de humedad del suelo, mayor proporción de suelo desnudo y mayor proximidad de la capa freática salina.

Hipótesis 1.2: Las variaciones estacionales de las propiedades edáficas son mayores en los sitios pastoreados que en los no pastoreados, debido al impacto del pisoteo y la pérdida de cobertura asociados al pastoreo.

Objetivo 2: Estudiar el efecto del pastoreo continuo sobre la comunidad vegetal de *S. densiflora* a lo largo de un gradiente ambiental de estrés.

Hipótesis 2.1: El pastoreo produce un cambio en la composición florística y aumenta la diversidad y riqueza florística en mayor medida en las posiciones topográficas más altas en comparación con las posiciones más bajas, donde las condiciones de estrés son mayores.

Objetivo 3: Estudiar el efecto de los ciclos diarios de inundación salina sobre poblaciones de *S. densiflora* provenientes de las posiciones altas y bajas de la marisma.

Hipótesis 3.1: Los individuos de *S. densiflora* provenientes de la posición baja presentan mayor tolerancia a la inundación salina que aquéllos procedentes de la posición alta. La mayor tolerancia frente a la inundación salina por parte de los individuos de la posición baja, se relaciona con la expresión de caracteres anatómicos, morfológicos y fisiológicos, que en conjunto redundan en una mayor acumulación de biomasa en las plantas.

Para llevar a cabo estos objetivos, la tesis consta de 3 capítulos experimentales. En el primer capítulo experimental realizado a campo se estudió el efecto del pastoreo sobre la dinámica estacional de las propiedades físicas y químicas del suelo a lo largo de un gradiente topográfico (**Experimento 1, Capítulo 2**). Luego, también sobre el mismo gradiente, se evaluó de qué manera el pastoreo afecta la comunidad vegetal de *S. densiflora* desde el punto de vista de los cambios en la composición florística, riqueza, diversidad y calidad forrajera del sistema (**Experimento 2, Capítulo 3**). En el tercero y último capítulo experimental (**Experimento 3, Capítulo 4**) se estudió de qué manera los ciclos diarios de inundación salina (simulando la marea), afectan a individuos de *S. densiflora* provenientes de las posiciones altas y bajas de la marisma, desde el punto de vista anatómico, morfológico y fisiológico.

CAPITULO 2

Efecto del pastoreo continuo sobre la dinámica estacional de propiedades físicas y químicas del suelo a lo largo de un gradiente ambiental de estrés ¹

¹ Resultados de avance presentados en:

- *IX International Rangeland Congress*, Rosario, Argentina 2011
- *II Reunión Argentina de Salinidad*, Tucumán, Argentina 2011

2.1 INTRODUCCIÓN

Como se mencionó en el capítulo anterior, las marismas se caracterizan por presentar un gradiente topográfico muy sutil, pero suficiente para generar distintos niveles de salinidad e intensidad y frecuencia de inundaciones por parte de las mareas. Esto determina que el efecto del pastoreo sobre el suelo pueda cambiar a lo largo del gradiente, principalmente debido al distinto contenido hídrico y frecuencia de eventos de inundación a lo largo del mismo (Tabla 1.1).

El estudio de los impactos del pastoreo sobre el suelo ha sido suficientemente analizado en los pastizales de la Pampa Deprimida (ver Capítulo 1 – Efecto del pastoreo sobre el suelo), pero no así en ambientes de marismas, como los existentes en la Bahía de Samborombón. Si bien las marismas se encuentran cerca de los pastizales del centro de la Pampa Deprimida, presentan características muy diferentes en cuanto su fisiografía, hidrología, vegetación y tipo de suelo. Por ello, los efectos del pastoreo sobre algunas propiedades edáficas en estos pastizales pueden ser diferentes a los descriptos para otros pastizales de la región. Con relación al efecto del pastoreo sobre las propiedades físicas en los ecosistemas de marismas, Zhang y Horn (1996a, b) observaron un aumento en la densidad aparente y en la resistencia a la penetración de los primeros centímetros del suelo con alta intensidad de pastoreo ovino, mostrando que este disturbio promueve la compactación de los horizontes superficiales de estos ambientes. Según Greenwood y Mc Kenzie (2001), la presión ejercida sobre el suelo por un bovino parado puede alcanzar en promedio los 138 kPa. Esto es muy superior a lo ejercido por un ser humano u otros mamíferos presentes en la zona, lo cual explica el impacto del ganado vacuno sobre la compactación del suelo. Por otro lado, al aumentar la proporción de suelo desnudo el pastoreo aumenta la evapotranspiración y consecuentemente favorece el ascenso de sales (Lavado y Taboada, 1987; Yu y Chmura, 2009). No obstante, los

aumentos en la proporción de suelo desnudo no siempre generan aumentos en la salinidad de los suelos bajo pastoreo, aunque sí cambios estacionales en la salinidad, con mayores valores en verano (Bakker, 1985).

2.2 METODOLOGÍA

2.2.1 *Sitio de muestreo*

Para estudiar el efecto del pastoreo sobre la dinámica estacional de las propiedades físicas y químicas del suelo a lo largo del gradiente ambiental de estrés se realizó un abordaje mensurativo en marismas ubicadas al sur de la Bahía de Samborombón, en el partido de Gral. Lavalle (Fig. 1.2). En el área se identificaron tres transectas (cada una incluía tres posiciones, alta – media – baja) en un sitio no pastoreado y otras tres en un sitio pastoreado (Fig. 1.2). De esta manera quedaron determinadas seis situaciones (pastoreado-no pastoreado x alto-medio-bajo) con tres repeticiones cada una ($n=3$), resultando un total de 18 unidades experimentales (Fig. 1.2). El sitio no pastoreado fue seleccionados dentro del Parque Nacional “Campos del Tuyu” (3000 ha, 36° 19' S, 56° 50' O) en el cual el pastoreo fue excluido desde 1979. El sitio pastoreado fue seleccionado en un campo vecino (1650 ha) en el cual se lleva a cabo la actividad de cría de ganado desde hace al menos 50 años, mediante pastoreo continuo y con una carga aproximada de 0.6 animales.ha⁻¹. Ver la descripción detallada del sitio de estudio y los sitios de muestreo en el Capítulo 1 (Fig. 1.2; Fig. 1.3).

2.2.2 *Suelo desnudo*

La medición del suelo desnudo fue realizada en cada unidad experimental en diciembre del 2010. El porcentaje de suelo desnudo se estimó, junto con la cobertura basal de cada especie (Capítulo 3), a través del método de intercepción por puntos (Mueller-Dombois

y ElleMBERG 1974) a lo largo de 10 transectas de 1 metro cada una (100 puntos en total), aleatoriamente ubicadas dentro de cada unidad experimental.

2.2.3 *Propiedades físicas del suelo*

Las mediciones de las propiedades físicas del suelo fueron realizadas en abril del 2010 (otoño), octubre del 2010 (primavera) y marzo del 2011 (verano), para poder estudiar la dinámica de estas propiedades en momentos contrastantes de humedad del suelo. Dada la gran humedad del suelo no se tomaron muestras en invierno. Las propiedades físicas cuantificadas fueron:

- Contenido hídrico gravimétrico y densidad aparente

Para la medición del contenido hídrico gravimétrico (CHG) se recolectaron muestras de los primeros 15 cm del suelo. Luego, en laboratorio, se pesó el volumen total de suelo húmedo extraído en cada muestra y se secó en estufa a 105° C hasta peso constante. La densidad aparente se estimó a dos profundidades (0-5 y 5-10 cm) con el método del cilindro (Grossman y Reinsch, 2002), utilizando un cilindro de 100 cm³ de volumen (5 cm de diámetro). Con los datos obtenidos se calculó el CHG y la densidad aparente, de acuerdo a las ecuaciones 1 y 2, utilizadas en la Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo del USDA (Luters y Salazar, 1999).

$$CHG (\%) = ((\text{peso suelo húmedo} - \text{peso suelo seco}) / \text{peso suelo seco}) * 100 \quad (\text{ecuación 1})$$

$$\text{Densidad aparente (gr. cm}^{-3}\text{)} = \text{peso suelo seco} / \text{volumen de suelo} \quad (\text{ecuación 2})$$

El conocimiento de la retención hídrica del suelo en capacidad de campo (*i.e.* -33,3 kPa de potencial mátrico) es esencial para tener una referencia sobre el contenido hídrico determinado a campo. Esta constante es costosa de obtener en laboratorio y no

está disponible en la cartografía de suelos de la región estudiada. En su reemplazo, se utilizó el dato de humedad equivalente obtenido de la carta de suelos de Gral. Lavalle, serie Bahía de Samborombón (INTA 2013), la cual se aproxima en su valor a la capacidad de campo. El valor de esta humedad equivalente es de 57.7%.

- Capacidad portante

La Capacidad Portante o Traficabilidad se evaluó a campo utilizando un penetrómetro estático Proctor (Davidson, 1965). Para ello se realizaron 20 mediciones por unidad experimental, tomadas al azar recorriendo transectas en zig-zag

2.2.4 Propiedades químicas del suelo

Para la obtención de las variables químicas se extrajeron muestras compuestas en cada unidad experimental con un barreno de 6.5 cm de diámetro por 15 cm de profundidad a 2 profundidades (0-15 y 15-30 cm). Las determinaciones de materia orgánica (MO) y pH se realizaron sólo en abril del 2010, ya que son variables estables en el tiempo y no se esperan cambios estacionales de las mismas. En cambio, para la estimación de la conductividad eléctrica (CE) se realizaron cuantificaciones en abril del 2010 (otoño), octubre del 2010 (primavera), diciembre del 2010 (principios del verano) y marzo del 2011 (fines del verano), para poder estudiar la dinámica de esta variable en momentos contrastantes de humedad del suelo y demanda atmosférica. Luego se determinaron los siguientes parámetros:

- Materia orgánica por el método de Walkley y Black (1934);
- pH en agua (1:2,2)
- Conductividad eléctrica en extracto de saturación (Rhoades 1982).

2.2.5 Análisis estadísticos

Para las variables de suelo desnudo, materia orgánica y pH se realizó un análisis de varianza factorial para determinar el efecto del pastoreo (dos niveles: no pastoreado – pastoreado), la posición (tres niveles: alto – medio – bajo) y la interacción entre ambos. La información de suelo desnudo y materia orgánica, al estar expresada en porcentaje, se transformó ($y = \arcsen\sqrt{x}$) para cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Las diferencias entre medias se determinaron mediante el Test de HSD Tukey.

Las variables tomadas en los distintos momentos del año se analizaron a través de un ANOVA de medidas repetidas en el tiempo (ANOVAmr) considerando a la posición topográfica (alto-medio-bajo) y el pastoreo (no pastoreado-pastoreado) como factores principales. Aquellas interacciones (tratamientos x fechas) que presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se les realizó un test Bonferroni ($\alpha = 0.05$) (Von Ende, 1993). La información de CHG, al estar expresada en porcentaje, se transformó ($y = \arcsen\sqrt{x}$) para cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianzas. El software estadístico que se utilizó tanto para el análisis de varianza factorial como para el de medidas repetidas en el tiempo fue el STATISTICA 1999 Edition (StatSoft Inc. 2007).

Los suelos de la Serie Bahía de Samborombón se caracterizan por tener rasgos vérticos (e.g. slickensides, grietas) y muy elevados porcentajes de arcilla (INTA 2013). Es por ello que se consideró necesario analizar el posible desarrollo de cambios de volumen, y por ende de la densidad aparente con la humedad edáfica (Taboada et al. 1988). Para ello se realizó un análisis de regresión entre la densidad aparente y el CHG para los sitios no pastoreados ($y = 0.91 + 0.0021 x$; $r^2 = 0.23$; $n = 27$; $P = 0.01$) y pastoreados ($y = 0.86 + 0.0009 x$; $r^2 = 0.03$; $n = 27$; $P = 0.37$) en los primeros 5 cm y de 5 a 10 cm (no pastoreado y pastoreado; $y = 1.04 - 0.0004 x$; $r^2 = 0.01$; $n = 54$; $P = 0.39$), para

evaluar la ocurrencia de cambios volumétricos (Fig. 2.3). También se realizó un análisis de regresión entre la capacidad portante y el CHG. Dado que se encontró una regresión significativa entre la capacidad portante y el CHG ($y = 13.06 - 0.18 x$; $r^2 = 0,55$; $n = 54$; $P < 0.0001$), se utilizó la pendiente de dicha regresión para estandarizar los valores de capacidad portante a humedad constante.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Suelo desnudo

La proporción de suelo desnudo fue afectada por la posición topográfica (ANOVA, efecto posición, $F_{2,12} = 13.9$, $P < 0.05$). En la posición alta y media de la marisma la proporción de suelo desnudo fue menor al 10%, mientras que en la posición baja fue en promedio del 27% (Fig. 2.1). El pastoreo mostró una tendencia a aumentar la proporción de suelo desnudo en las posiciones media y baja (ANOVA, efecto pastoreo, $F_{1,12} = 3.5$, $P = 0.08$) (Fig. 2.1). No se detectaron efectos de interacción posición x pastoreo ($F_{2,12} = 0.1$; $P = 0.9$) (Fig. 2.1).

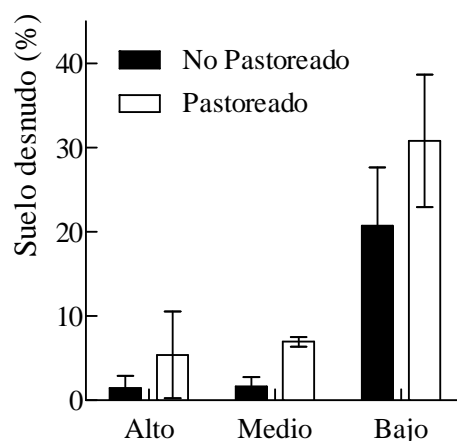


Figura 2.1: Suelo desnudo (%) en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.

2.3.2 Propiedades físicas del suelo

El contenido hídrico gravimétrico (CHG) fue mayor en la posición baja y menor en la posición alta (ANOVA, efecto posición, $F_{2,12} = 8.2$, $P < 0.05$). El pastoreo causó descensos significativos en el CHG (pastoreado > no pastoreado) en otoño y primavera en todas las posiciones (ANOVA_{mr}, fecha x pastoreo, $F_{2,24} = 11.6$, $P < 0.001$). En el verano se evidenciaron los menores valores de CHG. Sin embargo, en esta estación, no hubo diferencias en CHG ni entre sitios (no pastoreado = pastoreado), ni entre posiciones (alto = medio = bajo) (Fig. 2.2). Sólo los valores de CHG de la situación no pastoreada estuvieron en otoño y primavera por encima de la humedad equivalente. Los valores de CHG de la situación pastoreada fueron inferiores a la humedad equivalente.

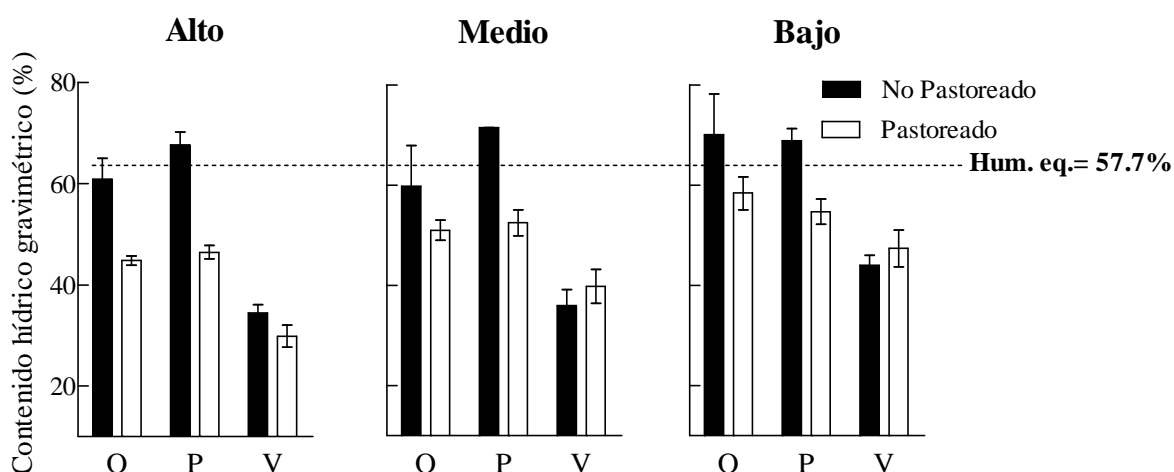


Figura 2.2: Dinámica del contenido hídrico gravimétrico (CHG, %) del suelo en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E. La línea punteada indica el valor de humedad equivalente de la Serie Bahía de Samborombón.

No se encontró relación entre la densidad aparente y CHG en la capa 5-10 cm, mientras que en la capa 0-5 cm, sólo en la situación no pastoreada la densidad aparente tendió a disminuir con el CHG, si bien con un coeficiente de determinación y pendiente

bajos. Ello no sucedió en la situación pastoreada, donde no hubo variación de la densidad aparente con el CHG (Fig. 2.3). Como no se encontraron relaciones importantes entre la densidad aparente y el CHG en esta situación particular ($r^2 = 0.23$ y $r^2 = 0.03$, para los sitios no pastoreados y pastoreados respectivamente), se decidió no corregir los valores de densidad aparente a humedad constante (Fig. 2.3).

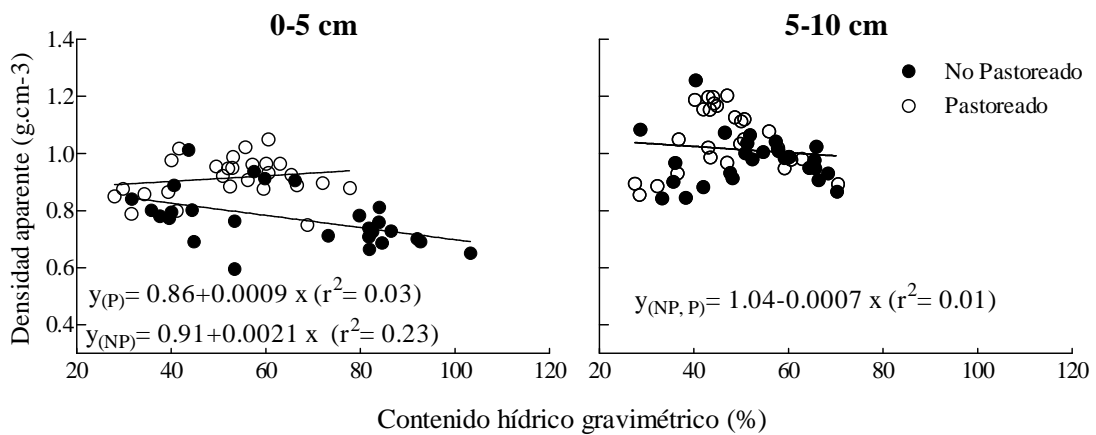


Figura 2.3: Relación entre densidad aparente (g.cm^{-3}) y contenido hídrico gravimétrico (CHG, %) de 0 a 5 cm (izquierda) y de 5 a 10 cm (derecha) para los sitios no pastoreados (NP, círculos llenos) y pastoreados (P, círculos vacíos).

La densidad aparente de la capa 0-5 cm fue afectada significativamente por la interacción entre el pastoreo y la fecha de muestreo (ANOVA_{mr}, fecha x pastoreo, $F_{2,24} = 4.7$, $P < 0.05$). El pastoreo causó aumentos significativos de densidad aparente en otoño y primavera, pero no en verano (Fig. 2.4, panel superior). En la capa subsuperficial (5-10 cm), se observaron valores más elevados de densidad aparente. Si bien el pastoreo causó también aquí efectos significativos (ANOVA, efecto pastoreo, $F_{1,12} = 4.7$, $P = 0.05$), no fueron tan nítidos como en la capa 0-5 cm. Además, la densidad aparente mostró valores significativamente más bajos en verano en las posiciones alta y

media del relieve, no así en la posición baja, que no evidenció cambios entre fechas (ANOVA_{mr}, fecha x posición, $F_{4,24} = 9.6$, $P < 0.001$) (Fig 2.4, panel inferior).

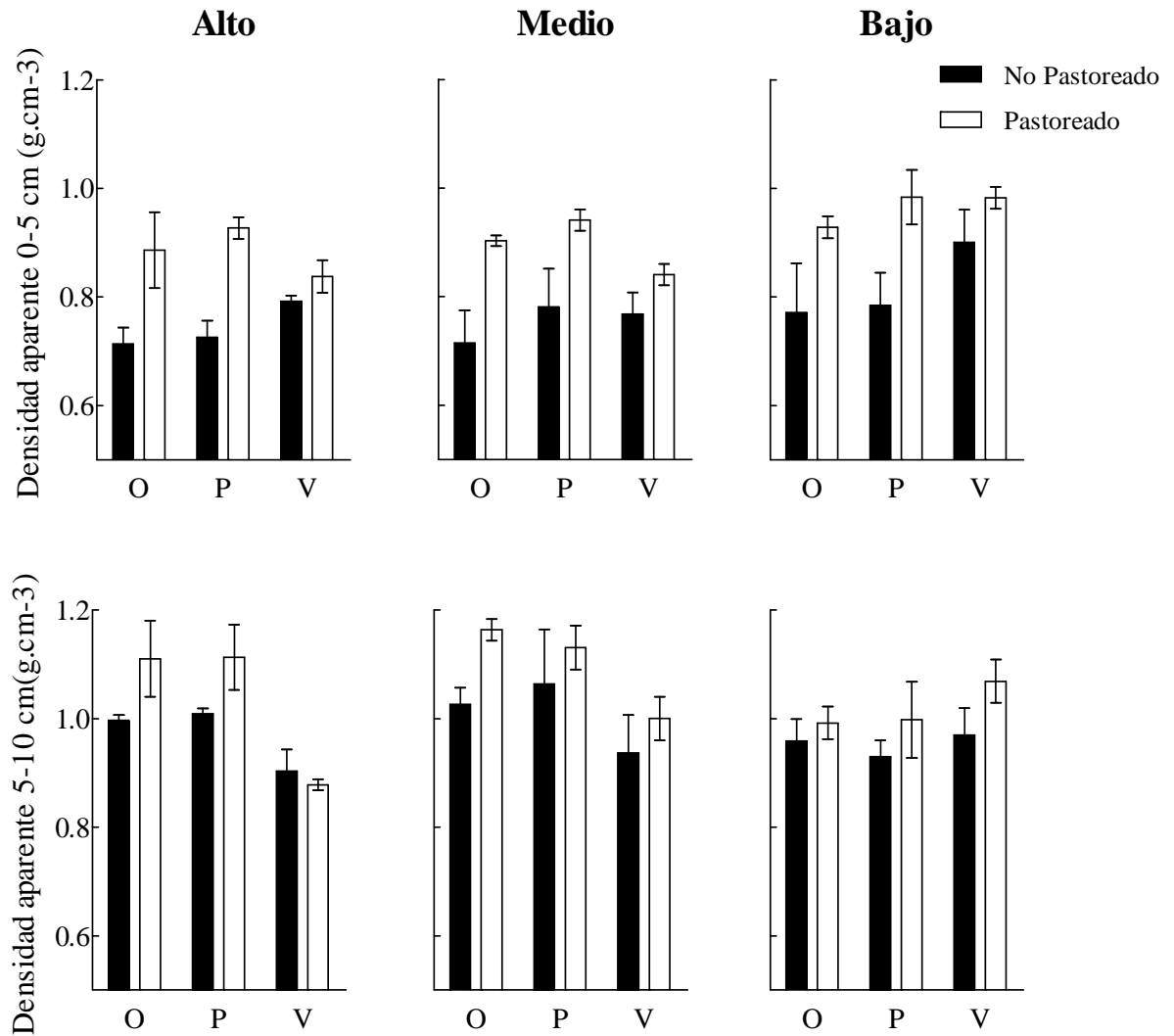


Figura 2.4: Dinámica de la densidad aparente del suelo (g.cm^{-3}) de 0 a 5 cm (panel superior) y de 5 a 10 cm (panel inferior) en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.

El pastoreo generó un aumento en la capacidad portante del suelo en la posición alta del relieve pero no en las otras posiciones (ANOVA, efecto posición x pastoreo, $F_{2,12}= 5.1$, $P< 0.05$). Asimismo, se observaron los mayores valores de capacidad portante en verano, principalmente en la posición alta y media (ANOVA_{mr}, fecha x posición, $F_{2,24}= 5.1$, $P< 0.05$; Fig. 2.5).

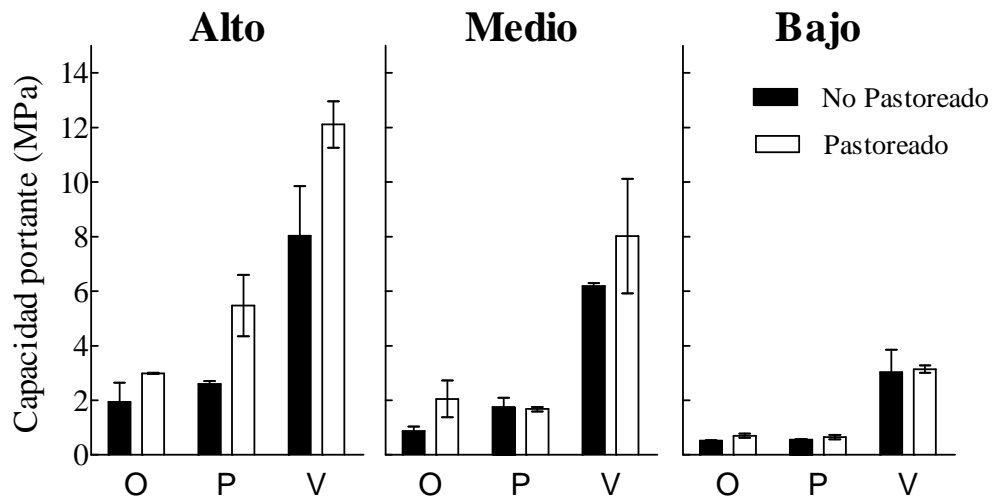


Figura 2.5: Dinámica de la capacidad portante (MPa) en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.

La capacidad portante corregida a valores de humedad constante, fue mayor en la posición alta en relación a la posición baja (ANOVA, efecto posición, $F_{2,12}= 10.2$, $P< 0.05$; Fig. 2.6). Asimismo, el pastoreo también aumentó la capacidad portante pero solo en verano (ANOVA_{mr}, fecha x pastoreo, $F_{2,24}= 9.5$, $P< 0.05$). También se observó que los sitios pastoreados en verano presentan una mayor capacidad portante que en otoño y primavera (ANOVA_{mr}, fecha x posición, $F_{2,24}= 3.3$, $P< 0.05$; Fig. 2.6).

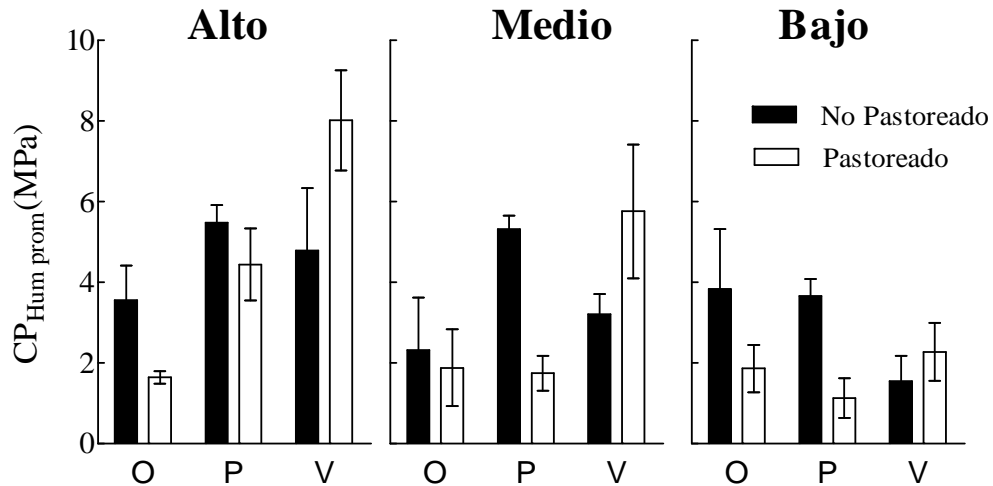


Figura 2.6: Dinámica de la capacidad portante llevada a humedad promedio constante ($CP_{Hum\ prom}$, MPa) en la posición alta, media y baja, para lo sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P) y verano (V). Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.

2.3.3 Propiedades químicas del suelo

El contenido de materia orgánica del suelo tendió a disminuir por el efecto del pastoreo en todas las posiciones (ANOVA, efecto pastoreo, $F_{1,12} = 1.9$, $P = 0.1$). Los sitios no pastoreados mostraron $8.2 \pm 1.3\%$ y los sitios pastoreados $5.8 \pm 0.5\%$ de materia orgánica en los primeros centímetros del suelo (0-15 cm). No se detectaron efectos de posición ni interacción ($F_{2,12} = 0.9$, $P = 0.43$ para posición y $F_{2,12} = 0.09$, $P = 0.91$ para interacción). En cambio, el pH de los primeros centímetros del suelo (0-15 cm) no cambió ni entre posiciones ni por efecto del pastoreo (Tabla 2.2). En el horizonte sub-superficial tampoco se encontraron diferencias entre tratamientos (datos no mostrados).

Tabla 2.2: Materia orgánica (MO, %) y pH de 0 a 15 cm en la posición alta, media y baja, para los sitios no pastoreados y pastoreados. Los valores son promedios para cada tratamiento \pm E.E.

	Alto		Medio		Bajo	
	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado
MO (%)	9,7 \pm 1	6,5 \pm 0,8	8,1 \pm 3,5	6,0 \pm 1,2	6,8 \pm 2,4	4,9 \pm 0,5
pH	7,2 \pm 0,2	7,3 \pm 0,2	7,3 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	7,4 \pm 0,3	7,5 \pm 0,2

La salinidad del suelo, determinada a través de la conductividad eléctrica de la capa 0-15 cm aumentó significativamente por el efecto del pastoreo en las posiciones media y baja, no así en la posición alta (ANOVA, efecto posición x pastoreo, $F_{2,7}=17.3$, $P<0.05$). Asimismo, se observó que la conductividad eléctrica fue más alta en todas las situaciones en verano (ANOVA_{mr}, efecto fecha, $F_{3,21}=8.2$, $P<0.05$) (Fig. 2.7, panel superior). En la capa sub-superficial (>15cm), el pastoreo aumentó la conductividad eléctrica en todos los sitios (ANOVA, efecto pastoreo, $F_{1,7}=9.8$, $P<0.05$), con un patrón de aumento en verano (ANOVA_{mr}, efecto fecha, $F_{3,21}=12.8$, $P<0.05$) similar que en la capa superficial (Fig. 2.7, panel inferior). Con respecto a la dinámica estacional de la conductividad eléctrica, no se observó un efecto “fecha x pastoreo”, lo cual significa que tanto los sitios no pastoreados como los pastoreados tuvieron un comportamiento similar a lo largo del año.

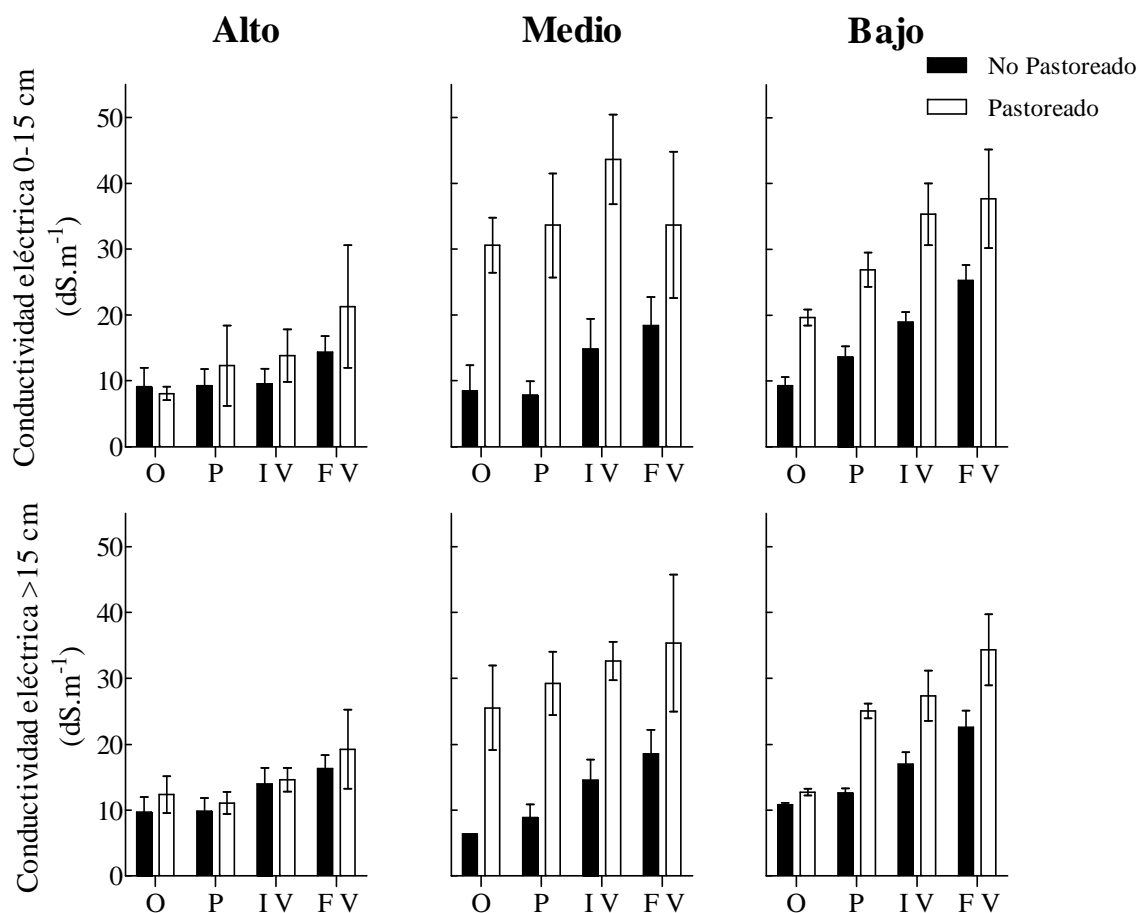


Figura 2.7: Dinámica de la conductividad eléctrica (dS.m⁻¹) de 0 a 15 cm (panel superior) y >15cm (panel inferior) para la posición alta, media y baja en situaciones no pastoreadas (barras llenas) y pastoreadas (barras vacías), en las estaciones de otoño (O), primavera (P), inicio del verano (IV) y fin del verano (FV). Se muestran los valores promedio \pm E.E.

2.4 DISCUSIÓN

El pastoreo y el pisoteo continuo sobre el suelo de las marismas bajo estudio causaron la compactación superficial del suelo, lo cual se verificó por aumentos significativos de densidad aparente (0-5 cm) de todas las posiciones del relieve (Fig. 2.4). Este resultado coincide con aumentos similares de densidad aparente por pisoteo en suelos de diferentes áreas geográficas y propiedades intrínsecas (Willatt y Pullar 1983; Greenwood y Mc Kenzie 2001; Taboada et al. 2011), así como también se observó en

otras marismas (Zhang y Horn 1996 a,b). Este aumento en la densidad (o cambio en el volumen del suelo) puede deberse a procesos de contracción por secado o a la compactación por pisoteo animal. Debido al alto contenido de arcillas expansibles de los suelos bajo estudio se esperaba un cambio de volumen como consecuencia de procesos de humedecimiento-secado. Sin embargo, sólo los sitios no pastoreados mostraron una leve relación entre la densidad aparente (0-5 cm) y el CHG (disminuyendo la densidad aparente de *ca.* 0.8 a 0.6 g.cm⁻³ a medida que aumenta la humedad), mientras que los sitios pastoreados mantuvieron la densidad aparente constante independientemente de la humedad (en *ca.* 0.9 g.cm⁻³; Fig. 2.4). Esto demuestra que el pastoreo en estos ambientes estaría evitando los cambios de volumen del suelo y promoviendo la rigidez de los mismos. Además, el alto contenido de arcilla de estos suelos también puede favorecer su compactación, a diferencia de suelos con altos contenidos de arena (Van Haveren 1983). Sin embargo, a pesar del aumento significativo de densidad aparente de estos suelos como consecuencia del pastoreo, los valores alcanzados no llegarían a ser un problema ya que se encuentran por debajo de valores de densidad considerados críticos en suelos arcillosos (> 1.3 Mg.m⁻³) (Álvarez y Taboada 2008).

La capacidad portante del suelo aumentó con el pastoreo, pero sólo en la posición alta del relieve (Fig. 2.5). El significado de estos aumentos debe analizarse desde dos puntos de vista contrapuestos. En primer lugar, podría ser el resultado de la compactación del terreno, lo cual puede afectar negativamente el crecimiento normal de las raíces y el establecimiento de propágulos en la comunidad de pastizal (Gupta y Allmaras 1987; Glisnki y Liepiec 1990). En segundo lugar, puede generar mayor resistencia del suelo al tránsito animal en un ambiente muy húmedo (Greenwood y McKenzie 2001). Por un lado, los resultados de esta tesis muestran que el aumento en la

capacidad portante en la posición alta, como consecuencia del pastoreo, genera un suelo más duro y seco y además se encuentra por encima de los 2 MPa (Fig. 2.5), valor a partir del cual se observan restricciones para el desarrollo radical de algunas especies (Glisnki y Liepiec 1990). Esta respuesta también se observa en verano en el resto de las posiciones. Al llevar los valores de capacidad portante a una humedad constante (por estar ambas variables relacionadas) se corroboró que en verano, tanto en la posición alta como en la media, el aumento en la capacidad portante se debe al efecto del pastoreo (compactación) y no a que el suelo se encuentra más seco (Fig. 2.6, observar cómo se diferencian los sitios no pastoreados de los pastoreados aún llevados a humedad constante). Por otro lado, el aumento en la capacidad portante de estos suelos en las posiciones altas y medias por el pastoreo supera los 0.098 – 0.19 MPa, que es el rango de presión estática que ejerce el ganado en el suelo (Greenwood y McKenzie 2001). Esto favorecería el tránsito animal en todas las posiciones. Sin embargo, dado que la posición baja presenta los menores valores de capacidad portante, puede ser más susceptible al tránsito animal (Fig. 2.5).

El menor contenido hídrico en suelos pastoreados también fue encontrado en numerosos trabajos realizados en Canadá y Estados Unidos (Greenwood y McKenzie 2001). También, al igual que en esta tesis, se observó que las diferencias entre sitios no pastoreados y pastoreados tienden a disminuir hacia el verano (Naeth et al. 1991, en Greenwood y McKenzie 2001). Por otro lado, se observó que la disminución en la humedad del suelo de los sitios pastoreados estaría llevando al mismo a niveles de humedad por debajo de la Humedad Equivalente calculada para la serie de suelos de la zona (57.7%; Fig. 2.2), lo cual, sumado a la mayor dureza de los mismos, podría generar problemas en el establecimiento y crecimiento de propágulos. Sin embargo, desde el punto de vista del análisis del impacto del pastoreo sobre la superficie de suelo

desnudo, esto no parecería ser un problema para la posición alta (que no presentó diferencias entre los sitios no pastoreados y pastoreados y además tiene menos de un 10% de suelo desnudo) pero sí para la media, donde las diferencias entre los sitios fue mayor y a su vez generó aumentos en la salinidad (esto se discute en párrafos posteriores).

La presencia de animales pastoreando tampoco generó un disturbio severo sobre la materia orgánica del suelo (Tabla 2.2). Si se compara con la literatura sobre el tema, se pueden hallar ejemplos de impactos tanto negativos (Marrs et al. 1989; Frank et al. 1995; Altesor et al. 2006) como neutros (Henderson et al. 2004) o positivos (Chaneton y Lavado 1996; Schuman et al. 1999) sobre el balance de C, en función del área geográfica, el tipo de suelo y sobre todo la modalidad de pastoreo (Taboada et al. 2011). En la zona de estudio, donde el pastoreo sólo tendió a generar descensos de MO, puede concluirse que la extracción de biomasa aérea por el pastoreo no es aún un estrés suficiente para generar impactos negativos (Parton et al. 1987). Sin embargo, no debiera ser descartado que exista ya un proceso incipiente de pérdida de C desde los suelos, el cual podría estar movilizado por varios factores. Por un lado, puede existir una pérdida de materia orgánica por erosión cuando el agua de marea se retira, mediado por el mayor porcentaje de suelo desnudo de los sitios pastoreados. Sin embargo, este proceso merecería de futuros experimentos en los cuales también se tenga en cuenta la tasa de incorporación de materia orgánica cuando ingresa la marea (Boorman 2003). Por otro lado, la disminución del contenido hídrico del suelo, favorecería las condiciones de aerobiosis y consecuentemente la mineralización de la materia orgánica (Chapin et al. 2002). Estos procesos serían más evidentes en las posiciones medias y bajas, más susceptibles a sufrir condiciones de anaerobiosis por la inundación generada por los movimientos de las mareas. De cualquier manera, el hallazgo de menores contenidos

hídricos del suelo en pastoreo, con niveles alejados de saturación en un ambiente de humedal como es el de una marisma, así como la evidencia de descensos en el contenido de MO asociados también al pastoreo, puede poseer relevancia ambiental. Ello es así porque son ambientes que almacenan una gran cantidad de carbono orgánico y en ellos la insaturación hídrica puede promover emisiones importantes de gases efecto invernadero hacia la atmósfera (Allen, 2012).

En un ambiente donde prevalecen naturalmente los procesos de halomorfismo edáfico, y donde el halomorfismo es un modelador importante de la composición y estructura de la comunidad de pastizal existente (Costa et al. 2003; Pennings et al. 2005; Isacch et al. 2006), puede afirmarse que el pastoreo causó aumentos significativos de salinidad superficial (*i.e.* conductividad eléctrica) en las posiciones medias y bajas del relieve (Fig. 2.7). El desencadenante de estos aumentos fue el flujo ascendente de sales desde la capa freática salina (que se encuentra a una profundidad ≤ 40 cm en la posición media y baja de nuestro experimento), motorizado por la mayor cobertura del suelo pastoreado (Lavado y Taboada 1987; Alconada et al. 1993; Yu y Chmura 2009). En la posición alta, en cambio, no se observaron aumentos en la concentración de sales en superficie debido a la mayor profundidad de la capa freática y a la poca proporción de suelo desnudo en los sitios pastoreados. Asimismo, estos procesos observados en las posiciones medias y bajas pudieron haber sido magnificados por las altas temperaturas presentes en estas marismas templadas en relación a marismas ubicadas en latitudes más frías (Pennings et al. 2005). En la posición baja, la película de agua en la superficie del suelo, como consecuencia de los eventos diarios de inundación, podría haber evitado los procesos de evaporación y ascenso de sales, sin embargo este proceso parece no haber ocurrido en este estudio (Alconada et al. 1993). Esto indicaría que la cercanía de la capa freática junto con la tendencia a un aumento en el porcentaje de suelo desnudo,

convierta a la posición media y baja en posiciones altamente sensibles al efecto del pastoreo en relación a cambios en la salinidad. En este sentido, podría especularse que los elevados valores de salinidad generados como consecuencia del pastoreo podría resultar un modulador importante de la comunidad vegetal en estas posiciones, aun cuando los niveles de salinidad existentes son poco compatibles con un muy amplio rango de especies no halófitas (Flowers y Colmer 2008).

Si bien el pastoreo generó cambios en las variables analizadas, y estos cambios variaron entre estaciones, la magnitud de estas variaciones fue similar entre sitios no pastoreados y pastoreados. Solo el CHG mostró una dinámica estacional (o diferencia entre estaciones) distinta entre sitios no pastoreados y pastoreados, pero contraria a lo hipotetizado (mayor dinámica estacional en los sitios no pastoreados). Por otro lado, como observó Bakker (1985) en marismas europeas, en la presente tesis también se encontraron cambios estacionales de la CE, aumentando la misma hacia el verano. Sin embargo, la magnitud de los cambios entre estaciones no fue mayor en los sitios pastoreados que en los no pastoreados. Parecería que la tendencia a una mayor proporción de suelo desnudo de los sitios pastoreados promovería el ascenso de sales a la superficie a lo largo del tiempo, pero no cambió la magnitud del proceso, ya que tanto los sitios pastoreados como los no pastoreados aumentaron de igual manera la salinidad hacia los meses estivales. Por lo tanto, si bien se planteó en las hipótesis que la dinámica estacional iba a ser mayor en los sitios pastoreados, los resultados demuestran que esto no ocurrió.

CAPITULO 3

Efecto del pastoreo continuo sobre la comunidad vegetal de *Spartina densiflora* a lo largo de un gradiente ambiental de estrés²

²Resultados presentados en:

- Di Bella CE, Jacobo E, Golluscio RA, Rodriguez AM (2014) Effect of cattle grazing on soil salinity and vegetation composition along a topographic gradient in a temperate costal salt marsh of Samborombón Bay (Argentina). *Wetlands, Ecology and Management* 22: 1-13.

- IX International Rangeland Congress, Rosario, Argentina, 2011.

3.1 INTRODUCCIÓN

Como se mencionó en el Capítulo 1 de la tesis, las marismas están moldeadas por factores ambientales restrictivos, como la salinidad edáfica y las inundaciones ocasionadas por las mareas (Michener et al. 1997; Bertness et al. 2002; Boorman 2003). La frecuencia y duración de las mareas aumentan hacia las zonas más bajas de la marisma (Boorman 2003). En cambio, la salinidad varía a lo largo del gradiente topográfico dependiendo de cada marisma, en las cuales varía la temperatura y la dinámica de evaporación en cada posición, factores que en general dependen de la latitud en la que se encuentra la marisma (Pennings et al. 2005). Por lo tanto, a lo largo del gradiente de elevación, las marismas muestran una fuerte zonificación de especies vegetales, en función de la tolerancia a la inundación y salinidad de las mismas (Bertness 1991; Krüger y Peinemann 1996; Castillo et al. 2000; Costa et al. 2003; Pennings et al. 2005; Isacch et al. 2006).

Los disturbios antrópicos, como el pastoreo por el ganado doméstico, tienen efectos contrastantes sobre la conservación de marismas (Boorman 2003; Gedan et al. 2009, 2011). Por un lado, el pastoreo puede ser benéfico porque aumenta la diversidad florística a partir de la disminución de la cobertura de la especie dominante respecto a marismas abandonadas o no pastoreadas, como se observó en marismas europeas (Bakker 1985; Bos et al. 2002). Por otro lado, el pastoreo puede ser perjudicial para la vegetación. En marismas australianas, el pastoreo intenso y selectivo, así como también el pisoteo, son considerados responsables de la reducción de la cobertura de especies “raras” y de la incapacidad de la vegetación para regenerarse o re-establecerse (Laegdsgaard 2006). Asimismo, en marismas europeas (Alemania y Francia), otros autores hallaron que la variabilidad espacial de la pérdida de diversidad y riqueza florística en áreas pastoreadas dependía de la intensidad local que alcanzara el pastoreo

en cada sitio (Andresen et al. 1990; Bouchard et al. 2003; Kleyer et al. 2003). En uno de esos trabajos se observó que la respuesta al pastoreo ovino, con relación a los cambios en riqueza, diversidad y equitatividad de especies, difirió entre posiciones topográficas, no encontrando respuestas en las zonas más bajas de la marisma pero sí en las posiciones más altas (Bouchard et al. 2003). Por otro lado, la dirección y magnitud de la respuesta al pastoreo es muy variable a lo largo del gradiente topográfico. Hacia la posición baja de la marisma, la proporción de suelo desnudo y la salinidad del suelo aumenta, y en mayor medida bajo pastoreo, favoreciendo la dominancia de un pequeño número de especies halófitas. Por el contrario, en la posición alta de la marisma, la reducción de la altura del canopeo inducida por el pastoreo, podría promover la aparición de un mayor número de especies glicofitas (Bakker y Ruyter 1981; Andresen et al. 1990).

El efecto del pastoreo bovino y ovino sobre la estructura y funcionamiento de marismas ha sido ampliamente estudiado en Europa, América del Norte y Australia. Por el contrario, en América del Sur, el estudio del efecto del pastoreo en marismas es escaso y se limita a herbívoros pequeños y nativos (Jackson y Giulietti 1988; Bortolus e Iribarne 1999; Costa et al. 2003; Silliman y Bortolus 2003; Bortolus et al. 2004; Cardoni et al. 2007; Vila et al. 2008; Alberti et al. 2010; Alberti et al. 2011; Coverdale et al. 2012), a pesar del uso de estos ambientes para la ganadería (Isacch et al. 2004, Vila et al. 2008). Sin embargo, aún sabiendo la importancia a nivel mundial de estos ecosistemas, no hay suficientes estudios que demuestren de qué manera el pastoreo puede afectar la composición florística, riqueza y diversidad de especies vegetales a lo largo de un gradiente ambiental. Conocer la identidad de las especies que se ven favorecidas o perjudicadas por el pastoreo permitirá tomar decisiones de manejo en

relación a momentos, frecuencia e intensidad de pastoreo, aspectos importantes para un uso sustentable de estos ambientes.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Sitios de muestreo

Para estudiar el efecto del pastoreo continuo sobre la comunidad vegetal de *S. densiflora* a lo largo de un gradiente ambiental de estrés se realizó un abordaje mensurativo en marismas ubicadas al sur de la Bahía de Samborombón, en el partido de Gral. Lavalle (Fig. 1.2). En el área se identificaron tres transectas (cada una incluía tres posiciones, alta – media – baja) en un sitio no pastoreado y otras tres en un sitio pastoreado (Fig. 1.2). De esta manera quedaron determinadas seis situaciones (pastoreado-no pastoreado x alto-medio-bajo) con tres repeticiones cada una ($n=3$), resultando un total de 18 unidades experimentales (Fig. 1.2). El sitio no pastoreado fue seleccionados dentro del Parque Nacional “Campos del Tuyu” (3000 ha, 36° 19' S, 56° 50' O) en el cual el pastoreo fue excluido desde 1979. El sitio pastoreado fue seleccionado en un campo vecino (1650 ha) en el cual se lleva a cabo la actividad de cría de ganado desde hace al menos 50 años, mediante pastoreo continuo y con una carga aproximada de 0.6 animales.ha⁻¹. Ver la descripción detallada del sitio de estudio y los sitios de muestreo en el Capítulo 1 (Fig. 1.2; Fig. 1.3).

3.2.2 Estudio de la vegetación

Las mediciones de las variables de la vegetación fueron realizadas en cada unidad experimental en Diciembre 2010 (primavera), cuando la mayor parte de las especies están activas y en estados fenológicos que facilitan su identificación. La cobertura basal de cada especie y del suelo desnudo se estimó a través del método de intercepción por

puntos (Mueller-Dombois y Elleberg 1974) a lo largo de 10 transectas de 1 metro cada una aleatoriamente ubicadas dentro de cada unidad experimental. En cada transecta se bajaron agujas cada 10 cm, de manera que se determinaron 100 puntos en total en cada estación experimental. Las especies con una cobertura basal menor a 0.1% fueron consideradas como “raras” y excluidas de la lista de especies, pero fueron tenidas en cuenta para los cálculos de los índices de diversidad. Se utilizó la nomenclatura de la base de datos de la Flora del Cono Sur del Instituto de Botánica Darwinion (2011).

3.2.3 Índice de diversidad de especies

La riqueza de especies (S) se estimó como el número total de especies. La diversidad de especies se estimó utilizando el índice Simpson: $1-D = 1/\sum p_i^2$ donde p_i es la proporción de la cobertura basal de una determinada especie respecto a la cobertura total de especies. Este índice proporciona una buena estimación de la diversidad en un tamaño relativamente pequeño de muestra y es fácil de interpretar, ya que los valores oscilan entre 0 y 1, aumentando a medida que el conjunto de vegetación sea más equitativo y tenga una mayor riqueza (Magurran 2004). La equitatividad ($E_{1/D}$) se estimó a partir de la siguiente ecuación: $E_{1/D} = (1/D)/S$, que es la que se recomienda cuando se espera una respuesta a un gradiente intuitivo (Smith y Wilson 1996; Magurran 2004).

3.2.4 Índice de calidad forrajera

Para cada situación evaluada se estimó un índice de calidad forrajera (ICF) para detectar diferencias en la calidad del forraje. El ICF se calculó como la media del valor de calidad específica de las distintas especies (q_i) ponderada por la contribución relativa de cada especie en cada sitio (p_i), a partir de la siguiente ecuación: $FQI = \sum p_i * q_i$. Los valores de calidad específica (q_i) para especies que se encuentran en los pastizales de la

Pampa Deprimida fueron propuestos por Cahuepé et al. (1985), y se encuentran en un rango que va desde 0 (especies sin calidad forrajera) hasta 5 (especies con excelente calidad forrajera).

3.2.5 *Análisis estadístico*

Con el objetivo de describir la variación de la composición de especies entre las situaciones evaluadas, se realizaron técnicas de ordenación y clasificación multivariado. Se llevo a cabo un Análisis de Correspondencia (CA, Greenacre 1984) usando la cobertura de especies (%) en cada situación. CA mantiene la distancia chi-cuadrado (ter Braak 1985), que es la medida de distancia apropiada para variables expresadas como valores relativos. Para evitar dar demasiado énfasis a las especies cuya abundancia en la matriz de datos eran bajas, se excluyeron las especies con constancia inferior al 5%. Para detectar diferencias entre sitios pastoreados y no pastoreados en cada posición topográfica, se realizó un Multi-response permutation procedure (MRPP). Para identificar a las especies responsables de esas diferencias se realizó un Análisis de Especies Indicadoras (Dufrene y Legendre, 1997) y el Test de Monte Carlo. Los análisis multivariados se realizaron con el software estadístico PC-ORD TM version 4 (McCune y Mefford 1998).

Para las variables de riqueza de especies (S), diversidad (1-D), equitatividad ($E_{1/D}$) y calidad forrajera (ICF) se realizaron análisis de varianza factoriales para determinar el efecto del pastoreo (dos niveles: no pastoreado – pastoreado), la posición (tres niveles: alto – medio – bajo) y la interacción entre ambos. Diferencias significativas entre las medias se determinaron mediante el Test de HSD Tukey. Los análisis de varianza factoriales se realizaron con el software estadístico STATISTICA 1999 Edition (StatSoft Inc. 2007).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Composición florística

El Análisis de Especies Indicadoras y el test de Monte Carlo mostraron que en la posición alta el pastoreo disminuyó la cobertura relativa de *Spartina densiflora*, especie dominante de la comunidad, y aumentó la cobertura relativa de las hierbas dicotiledóneas como *Centaureum pulchellum* y *Phyla canescens* y de la gramínea rastrera estival *Stenotaphrum secundatum*. En la posición media, el pastoreo aumentó la cobertura relativa de la hierba altamente resistente a la salinidad *Sarcocornia perennis* y disminuyó la cobertura relativa de *Centaureum pulchellum* y de la leguminosa *Melilotus officinalis*. En la posición baja, el pastoreo aumentó la cobertura relativa de *Sarcocornia perennis* (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Cobertura relativa de las especies (%) en la posición alta, media y baja para los sitios no pastoreados y pastoreados ^a.

Especies	Alto		Medio		Bajo		C	O	qi		
	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado					
Gramíneas anuales invernales (C3)											
Lolium multiflorum	-	2.8					A	E	5		
Polypogon monspeliensis	0.9	1.8					A	E	3		
Hainardia cylindrica	-	2.0	-	0.7			A	E	1		
Gramíneas perennes invernales (C3)											
Jarava plumosa	-	5.8					P	N	2		
Thinopyrum ponticum	0.6	-					P	E	3		
Poa trivialis	2.8	3.6	1.4	-			P	E	4		
Chaetotropis elongata	1.1	0.7	0.7	0.3			P	N	3		
Hordeum stenostachys	0.3	3.1	0.2	-	5.4	-	P	N	2		
Gramíneas erectas estivales (C4)											
Sporobolus indicus	-	0.3					P	N	3		
Cortaderia selloana	1.8	-	0.6	-			P	N	1		
Spartina densiflora	33.6	20.4	**	38.6	40.4	58.8	48.6	P	N	2	
Gramíneas rastreras estivales (C4)											
Stenotaphrum secundatum	-	8.0	**				P	N	2		
Cynodon plectostachyus	2.3	2.2					P	E	4		
Distichlis spicata	16.0	5.1		16.2	20.1	-	6.0	P	N	1	
Leguminosas invernales											
Melilotus officinalis	7.0	2.6	6.6	0.3	**	1.0	-	A/B	E	5	
Melilotus albus	0.6	-						B	E	5	
Vicia platensis			0.6	-				A/B	N	5	
Leguminosas estivales											
Medicago lupulina	0.9	0.5						A/B	E	2	
Dicotiledóneas herbáceas invernales											
Cirsium vulgare	-	0.2						A/B	E	0	
Centaurea calcitrapa	-	0.4						A/B	E	0	
Senecio selloi	0.9	-						P	N	0	
Sonchus asper	0.6	-						A/B	E	0	
Agalinis communis	-	0.2						P	N	0	
Gamochaeta pensylvanica	-	0.2						B/P	N	0	
Dicotiledóneas herbáceas estivales											
Phyla canescens	-	8.5	**					P	N	0	
Symphyotrichum squamatum	0.9	-						P	N	0	
Gamochaeta falcata	-	1.0						P	N	0	
Ambrosia tenuifolia Spreng.	0.5	1.6	0.7	-				P	N	0	
Baccharis pingraea DC.	4.1	8.3	11.6	-				P	N	0	
Centaureum pulchellum	0.3	8.0	**	4.3	-	**	1.6	-	A	E	0
Sarcocornia perennis	7.0	2.7	9.3	29.4	**	8.9	14.6	*	P	E	1
Apium sellowianum	0.3	0.4	0.2	-		2.1	-	A/B	N	0	
Bupleurum tenuissimum	-	0.2						A	E	0	
Limonium brasiliense	-	0.2						P	N	2	
Malvella leprosa	-	0.2						P	N	0	
Acmella decumbens	-	0.3						P	N	0	
Teucrium cubense	-	0.2						P	N	0	
Cotula coronopifolia	-	0.2						P	E	0	
Plantago myosuroides	0.6	0.5	0.3	-				A	N	2	
Juncáceas											
Carex bonariensis	3.5	0.6						P	N	2	
Cyperus eragrostis	2.3	-						P	N	0	
Juncus balticus	-	0.2						P	N	2	
Juncus bufonius	-	0.3						A	N	1	
Juncus acutus	3.4	-	6.9	-		1.6	-	P	N	1	

^a Los valores son promedios de cada tratamiento. Diferencias significativas entre tratamientos de pastoreo se indican con ** cuando $p < 0.01$ y con * cuando $p < 0.05$ según el Análisis de Especies Indicadoras y el test de Monte Carlo. C: ciclo (A: anual, B: bianual, P: perenne), O: origen (N: nativa, E: exótica) y qi: calidad forrajera de cada una de las especies.

Los primeros dos ejes de la ordenación (CA) de la composición florística explican el 45.1% de la varianza total. El primer eje explica el 27.8% de la varianza total y refleja un cambio en la composición de especies entre las unidades experimentales en relación a la posición topográfica. A lo largo del primer eje, las unidades experimentales pertenecientes a la posición baja y media pastoreada se ubicaron hacia la izquierda (valores negativos), así como también el suelo desnudo y las especies halófitas como ser *Spartina densiflora*, *Sarcocornia perennis*, *Limonium brasiliense* y *Apium sellowianum*. Las unidades experimentales pertenecientes a las situaciones medias y altas no pastoreadas se ubicaron en el centro de los ejes, a valores positivos bajos, mientras que la situación alta pastoreada se ubicó hacia la derecha, a valores positivos altos. A lo largo del primer eje, el nivel de tolerancia a la salinidad de las especies decrece hacia la derecha. Predominan especies glicofilas como *Lolium multiflorum*, *Jarava plumosa*, *Polypogon monspeliensis*, *Poa trivialis*. En cambio, hacia la izquierda del primer eje (valores negativos) se encuentran especies halófitas como *Distichlis spicata*, *Juncus acutus*, *Melilotus officinalis*, *Melilotus albus*, *Thinopyrum ponticum* (Fig. 3.1).

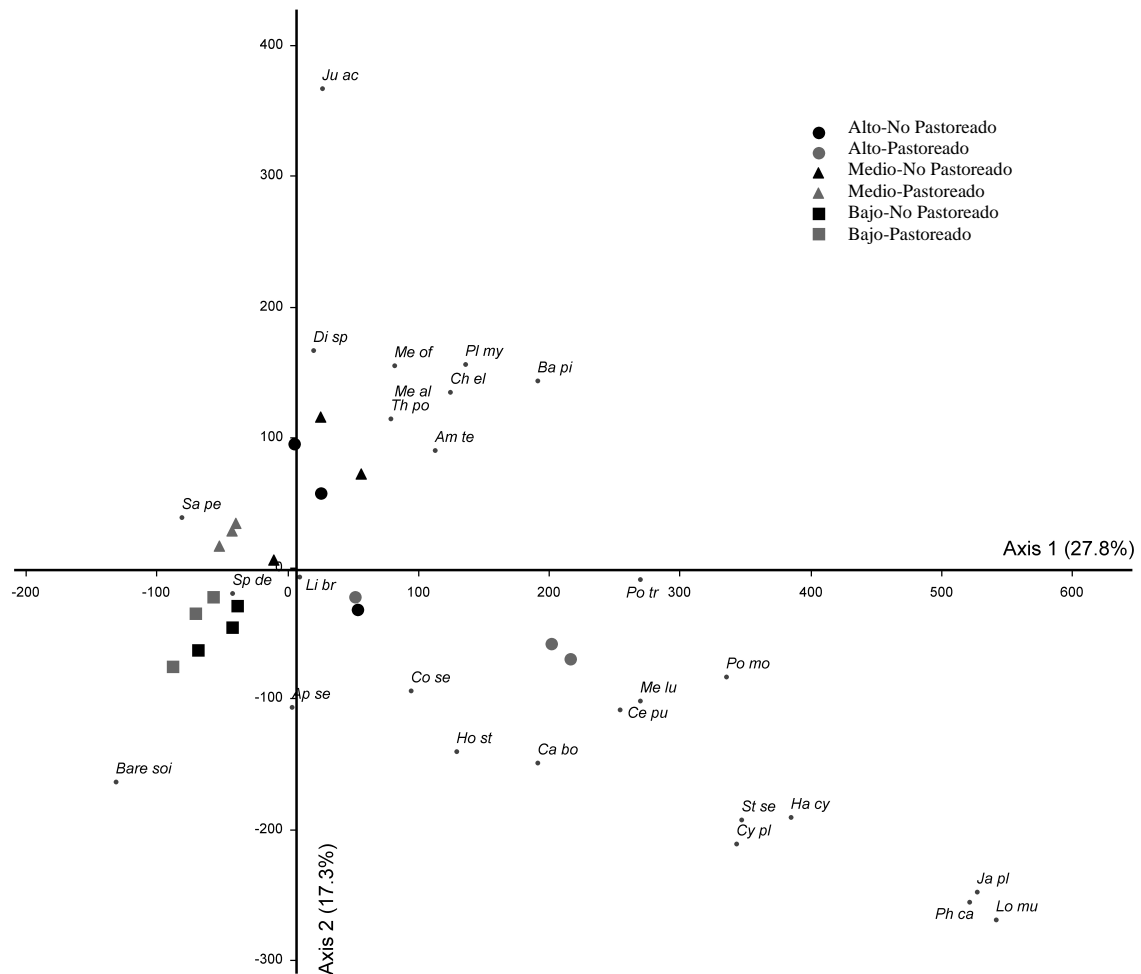


Figura 3.1: Ordenamiento (CA) de las distintas posiciones topográficas (Alto – Medio – Bajo) en los sitios no pastoreados y pastoreados. Especies cuya constancia fue menor al 5% fueron excluidas de la matriz de datos para evitar darle demasiado énfasis a las especies “raras”. Las especies están identificadas por las dos primeras letras del género seguidas por las dos primeras letras del epíteto (detalles en Tabla 3.1).

El análisis de MRPP confirmó que el pastoreo provocó un cambio en la composición florística en la posición alta ($P < 0.1$) y media ($P < 0.1$) pero no en la baja ($P > 0.1$) (Fig. 3.1, Tabla 3.1). El pastoreo también aumentó la similitud de la vegetación entre las unidades experimentales de cada posición. Así, para cada posición, la distancia promedio entre sitios pastoreados fue menor que entre los sitios no

pastoreados (27.1 vs. 31.8, 16.8 vs. 33 y 26.3 vs. 32.9 para la posición alta, media y baja respectivamente, obtenido a partir del análisis del MRPP) (Fig. 3.1).

3.3.2 *Índices de diversidad*

La riqueza de grupos funcionales decreció a medida que disminuyó la posición topográfica, desde nueve grupos funcionales en la posición alta a cinco en la posición baja (Tabla 3.1). La riqueza (S), la diversidad (1-D) y la equitatividad ($E_{1/D}$) de especies también fueron afectadas en relación a la posición topográfica. La riqueza y diversidad de especies disminuyeron mientras que la equitatividad aumentó desde la posición alta a la baja. Se encontró una interacción ligeramente significativa (posición x pastoreo = 0.05) en la riqueza de especies, que muestra que la misma aumenta con el pastoreo en la posición alta, pero disminuye en la posición media y baja. La diversidad de especies en la posición alta y media fue similar y mayor que en la posición baja mientras que la equitatividad mostró una respuesta opuesta (Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Índices de diversidad de la vegetación en la posición alta, media y baja en sitios no pastoreados y pastoreados ^a.

Índices de Diversidad	Alto		Medio		Bajo			F	df	P
	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado	No Pastoreado	Pastoreado				
Riqueza (S)	16 (1.1)	28 (6.6)	12 (2.3)	9 (2.6)	5 (1.2)	3 (0.3)	Pos	17.44	2	<0.05
							Pas	0.74	1	0.41
							P*P	3.85	2	0.05
Diversidad (Índice Simpson, 1-D)	A		B		B		Pos	16.91	2	<0.05
	0.79 (0.01)	0.88 (0.03)	0.75 (0.04)	0.66 (0.003)	0.36 (0.17)	0.44 (0.05)	Pas	0.14	1	0.71
							P*P	0.87	2	0.44
Equitatividad (E_{1/D})	A		A		B		Pos	4.96	2	<0.05
	0.31 (0.02)	0.34 (0.03)	0.36 (0.08)	0.39 (0.09)	0.41 (0.11)	0.70 (0.08)	Pas	3.55	1	0.08
							P*P	1.84	2	0.20
	B		B		A					

^a Los valores son promedios para cada tratamiento y los errores estándar se muestran entre paréntesis. F-ratio, grados de libertad (df) y el valor de *P* se indican en la Tabla (Pos: posición, Pas: pastoreo, P*P interacción entre posición y pastoreo). Letras distintas indican diferencias significativas (*P*= 0.05) según el test de HSD Tukey.

3.3.3 Calidad forrajera

El índice de calidad forrajera (ICF) fue afectado por la posición topográfica y el pastoreo. Los valores más altos de ICF fueron encontrados en la posición alta no pastoreada, llegando a un valor de 1.94 (sobre un máximo de 5). El ICF disminuyó significativamente de la posición alta a la media (1.58) y la baja (1.40) en los sitios no pastoreados. El pastoreo afectó negativamente el ICF en mayor medida en la posición alta (aproximadamente 30% de disminución) que en la posición media y baja (15% de disminución) (Fig. 3.2).

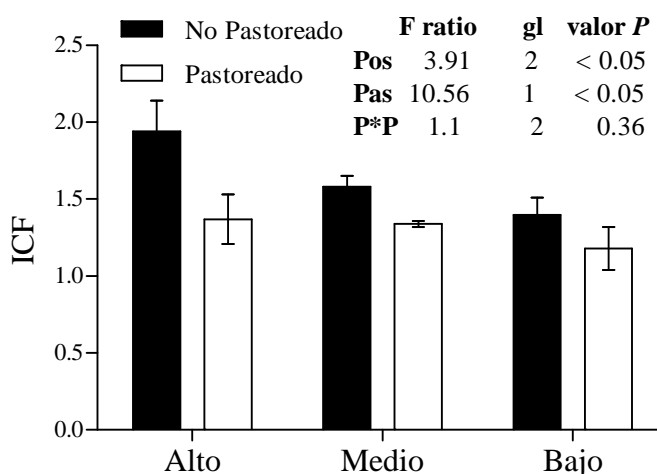


Figura 3.2: Índice de calidad forrajera (ICF) para la posición alta, media y baja en sitios no pastoreados (barras llenas) y pastoreados (barras vacías). Los valores son promedios de cada tratamiento \pm E.E. Se indica: F-ratio, grado de libertad (gl) y el valor *P* para la posición topográfica (Pos), el pastoreo (Pas) y la interacción (P*P= posición x pastoreo).

3.4 DISCUSIÓN

A medida que disminuye la posición topográfica, el ambiente se torna más estresante porque la salinidad del suelo y la frecuencia y duración de las mareas aumentan. Consecuentemente, la cobertura vegetal, la riqueza de grupos funcionales y de especies, y la diversidad disminuye. Esto provoca una zonificación de especies a lo largo del

gradiente, lo cual es una respuesta general en un amplio rango de marismas (Snow y Vince 1984; Costa et al. 2003; Pennings et al. 2005; Cui et al. 2011). La zonificación de especies involucra una disminución de la riqueza de grupos funcionales y del número de “especies acompañantes” de *Spartina densiflora*, que es la dominante en la comunidad, desde la posición alta hacia la baja. El pastoreo alteró la composición florística de manera distinta a lo largo del gradiente. El pastoreo cambió la estructura de la vegetación de manera más intensa en la posición alta que en la posición media y baja, tal como también fue encontrado en marismas de Europa (Lefeuvre et al. 2000, Bos et al. 2002, Bouchard et al. 2003). Esta respuesta podría estar explicada por que el pastoreo reduce la competencia generada por la especie dominante en la posición alta, permitiendo un aumento en la riqueza florística. En cambio, en la posición baja, el patrón de la vegetación está controlado principalmente por la tolerancia a los principales factores estresantes como la inundación, la salinidad edáfica y la deficiencia de oxígeno en el suelo (Snow y Vince 1984, Kleyer et al. 2003).

En la posición alta, el pastoreo continuo a largo plazo tendió a aumentar la riqueza y la diversidad. La defoliación producida por el ganado disminuyó la competencia ejercida por *S. densiflora* y permitió el reemplazo y colonización de nuevas especies rastreras capaces de evadir el pastoreo (*Phyla canescens*, *Stenotaphrum secundatum*) y de especies con alta tasa de crecimiento (pastos y herbáceas C₃ anuales). Estas especies fueron capaces de establecerse rápidamente luego de la defoliación de la especie dominante (Rusch y Oosterheld 1997, Chaneton et al. 2002), favorecidas por la alta disponibilidad de luz en la superficie del suelo (Deregibus et al. 1994, Rodríguez et al. 1998, Huan et al. 2006). La mayoría de las especies acompañantes no son tolerantes a la salinidad e inundación, o lo son levemente, y además son componentes importantes de las praderas húmedas de mesófitas de la Pampa Deprimida (León 1975; León et al.

1979; Perelman 2001). Una respuesta similar se encontró en marismas ubicadas en latitudes superiores del Hemisferio Norte, donde el pastoreo ovino y bovino cambió la composición florística y aumentó la riqueza y diversidad a través de la disminución de la cobertura de la especie dominante (Bakker 1985; Bos et al. 2002).

En la posición media y baja, el aumento de la salinidad del suelo mediado por el pastoreo continuo favorece el aumento de la abundancia relativa de especies tolerantes a condiciones de estrés, como por ejemplo la especie halófila *Sarcocornia perennis*, y la disminución de la abundancia relativa de hierbas dicotiledóneas menos tolerantes como por ejemplo *Centaureum pulchellum* y *Melilotus officinalis*. En otros estudios realizados en posiciones medias de marismas también se observó que el pastoreo aumentó la cobertura de *Salicornia europea*, especie cercana a *Sarcocornia perennis*, debido al aumento en el suelo desnudo y salinidad (Tessier et al. 2003). La selectividad por parte del ganado pudo también contribuir al cambio en la vegetación, reduciendo la abundancia relativa de la leguminosa *Melilotus officinalis*, especie altamente preferida por el ganado (Kneebone 1959). Estos cambios mediados por el pastoreo aumentaron la similitud entre las posición media y baja de la marisma, como también fue documentado en otras comunidades vegetales de pastizales de la Pampa Deprimida (Sala et al. 1986; Chaneton et al. 2002).

La calidad forrajera disminuye hacia la posición baja, consistentemente con el incremento en el nivel de estrés, debido al cambio de las especies acompañantes a lo largo del gradiente (Vince y Snow 1984; Cui et al. 2011). Las gramíneas y leguminosas de alta calidad fueron encontradas sólo en la posición alta, mientras que en la posición baja se encontraron especies de menor calidad pero más resistencia a la salinidad e inundación. El pastoreo redujo la calidad del forraje en la posición alta y media debido a la selectividad del ganado hacia las leguminosas (*Melilotus officinalis*) y gramíneas

erectas (*Lolium multiflorum*, *Poa trivialis*, *Polypogon monspeliensis*, *Thinopyrum ponticum*, *Chaetotropis elongata*, *Sporobolus indicus*) de mayor calidad, permitiendo la invasión de gramíneas y dicotiledóneas rastreras de menor calidad (*Stenotaphrum secundatum*, *Phyla canescens*, *Centaureum pulchellum* y *Sarcocornia perennis*). Los cambios en la composición florística debidos al pastoreo continuo, que favorece a los pastos rastreros y herbáceas en detrimento de gramíneas y leguminosas erectas y de alto valor nutritivo, también fueron encontrados en otros pastizales de la Pampa Deprimida (Chaneton et al. 1988; Agnusdei 1991; Deregibus et al. 1995; Rusch y Oesterheld 1997; Jacobo et al. 2006), de Uruguay (Altesor et al. 2005; Rodriguez et al., 2003) y de otros pastizales del mundo (Milchunas y Lauenroth 1993). El aumento en la cobertura relativa de *Sarcocornia perennis* y la disminución en la cobertura relativa de *Spartina densiflora* determinó una reducción en la calidad forrajera en la posición baja pastoreada, como consecuencia de la menor calidad forrajera de *S. perennis* respecto a *S. densiflora*.

El efecto del pastoreo bovino sobre la conservación de la biodiversidad está bajo un intenso debate (Cingolani et al. 2005; Lunt et al. 2007) ya que se considera que podría ser dañino, relativamente neutral o hasta deseable para ese propósito (Cingolani et al. 2008, de Bello et al. 2010). El impacto del pastoreo sobre la diversidad florística depende principalmente de la intensidad del mismo (de Bello et al. 2006, Cingolani et al. 2008), encontrándose la máxima diversidad florística bajo pastoreo moderado (Noy-Meir et al. 1989, Noy-Meir y Kaplan 2002, Rosa Garcia et al. 2012). Esta respuesta fue encontrada en varias marismas, donde la mayor riqueza y diversidad florística se encontró bajo pastoreos de intensidad moderada, y la menor se encontró en condiciones de clausura o con altas intensidades de pastoreo o sobrepastoreo (Andresen et al. 1990; Bouchard et al. 2003; Kleyer et al. 2003). Apoyando esta idea general, en nuestro sitio de estudio no pastoreado, en la posición alta, la sucesión natural luego de la exclusión

del pastoreo, llevó a la comunidad de *Spartina* a un estado final dominado por unos pocos pastos erectos y consecuentemente baja diversidad y riqueza florística. Sin embargo, la mayor riqueza y diversidad en esta posición bajo pastoreo continuo se debe a la aparición de especies rastreras con poca o nula calidad forrajera. En la posición media y baja los cambios en la cobertura relativa de varias especies también llevaron a una disminución de la calidad forrajera de la comunidad. Por lo tanto, el pastoreo continuo puede causar un impacto positivo desde el punto de vista de la conservación de la vegetación (aumenta la riqueza y diversidad de especies) en algunas posiciones (posición alta) pero no en otras (posición media y baja), mientras que también causa un efecto negativo desde el punto de vista productivo (disminución de la calidad forrajera en todas las posiciones).

CAPITULO 4

Efecto de los ciclos diarios de inundación salina sobre poblaciones de *Spartina densiflora*³

³Resultados presentados en:

- Di Bella CE, Striker GG, Escaray FJ, Lattanzi FA, Rodríguez AM, Grimoldi AA. Saline tidal flooding effects on *Spartina densiflora* plants from different positions of the salt marsh. Diversities and similarities on growth, anatomical and physiological responses. *Environmental and Experimental Botany*, 102: 27-36.
- 25° Reunión Argentina de Ecología, Luján, Bs. As, Argentina 2012.

4.1 INTRODUCCIÓN

Como se mencionó en los capítulos previos de la tesis, las marismas están principalmente moldeadas por dos factores ambientales restrictivos, la salinidad del suelo y las inundaciones, cuya magnitud está directamente asociada con la posición en el gradiente topográfico. Por esta razón, la elevación sobre el nivel del mar determina un gradiente ambiental de estrés: en la posición alta la inundación ocurre con una menor frecuencia mientras que en la posición baja la inundación es diaria e impone una mayor salinidad y duración de los eventos de inundación. *Spartina densiflora* es una gramínea erecta perenne y de metabolismo fotosintético C_4 que, a diferencia de otras especies (*e.g. S. anglica*), es capaz de crecer a lo largo de todo el gradiente topográfico descrito previamente (ver Capítulo 1 para la descripción del gradiente topográfico; Bortolus 2006; Maricle et al. 2009). Además se la encuentra no solo en la costa Atlántica de América del Sur sino también en marismas de todo el mundo (Bortolus 2006; Isacch et al. 2006). Esto puede deberse a la existencia de distintos ecotipos y/o al alto grado de plasticidad fenotípica de la especie (Loreti y Oosterheld 1996; Sultan 2000). Hasta el momento, la existencia/relevancia de la variabilidad intraespecífica en función de la heterogeneidad espacial de los ecosistemas de marisma ha recibido poca atención.

Pocos estudios han determinado las respuestas ecofisiológicas a la inundación salina de especies halófitas (Colmer y Flowers 2008). La mayoría de los estudios se han focalizado en cultivos anuales relativamente tolerantes (como el centeno, la cebada y el trigo) y especies perennes leñosas (como *Atriplex amnicola*, *Acacia ssp.*, *Eucalyptus ssp.*), encontrando que la inundación en condiciones de salinidad aumenta la concentración de Na^+ y Cl^- en los tejidos de las plantas, lo cual tiene efectos adversos en su crecimiento y supervivencia (Barrett-Lennard 2003). En relación con los efectos sobre la partición de biomasa, Poorter et al. (2012) establecieron que la inundación en

general aumenta la partición de biomasa hacia la parte aérea, mientras que la salinidad afecta mínimamente la partición de biomasa.

La salinidad afecta negativamente muchos parámetros fisiológicos, debido principalmente a la generación de estrés osmótico en las raíces y la toxicidad de iones a nivel celular (*i.e.* exceso de Na^+ o Cl^- ; Munns y Tester 2008). Las especies halófitas afrontan la salinidad mediante la reducción en la absorción de iones tóxicos y/o su acumulación en vacuolas, la síntesis de solutos orgánicos compatibles y/o la secreción de iones tóxicos por fuera de las hojas a través de células secretoras de sal (Flowers y Colmer 2008). Aunque *S. densiflora* es una especie altamente tolerante al estrés salino, ha mostrado una disminución en el crecimiento, en la tasa fotosintética y en la eficiencia fotoquímica (*i.e.* daño por fotoinhibición) cuando es sometida a altos niveles de salinidad (Castillo et al. 2005; Maricle et al. 2007). Asimismo, en plantas C_4 , un mal funcionamiento del mecanismo fotosintético puede estudiarse a través de cambios en la discriminación del ^{13}C . Aumentos en la discriminación de ^{13}C durante la asimilación del CO_2 estarían indicando una pérdida de CO_2 (proporción del CO_2 que es bombeado dentro de las células de la vaina mediante el ciclo de reducción del carbono fotosintético, que no es fijado por la Rubisco y que vuelve al mesófilo por difusión) y/o una mayor relación Ci/Ca (Farquhar et al. 1989).

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Sitio de estudio y material vegetal

Plantas de *Spartina densiflora* de dos posiciones topográficas – alto y bajo – fueron extraídas de una marisma ubicada dentro del Parque Nacional “Campos del Tuyú” ($56^\circ 50' \text{ W} - 36^\circ 19' \text{ S}$) en el margen oeste del estuario del Río de la Plata (Argentina) (Fig. 1.2; ver la descripción detallada del sitio de estudio y de muestreo en el Capítulo 1). En

diciembre del 2010, tanto en sitios altos como en sitios bajos de la marisma, se recolectaron 50 plantas separadas entre sí más de 2 m, para asegurar que se tratara de individuos independientes, ya que la especie presenta un crecimiento rizomatoso. Las plantas fueron transportadas a un jardín experimental ubicado en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FA-UBA) y luego fueron propagadas vegetativamente dos veces (Enero y Agosto del 2011; se obtuvieron 4-5 individuos por planta original) para eliminar la influencia del ambiente de origen sobre las respuestas en jardín experimental común para ambas poblaciones (como en Loreti y Oosterheld 1996). Luego de eso, las plantas fueron cultivadas en un invernáculo situado en la FA-UBA hasta el comienzo del experimento en Octubre 2011 (Fig. 4.1).

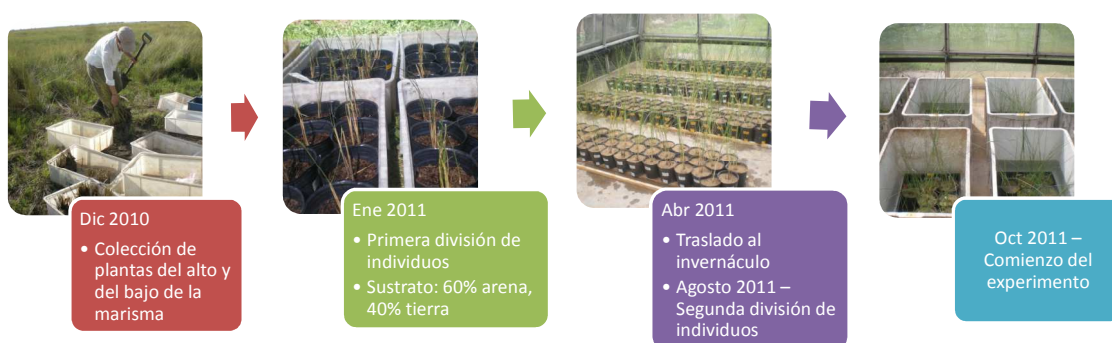


Figura 4.1: Esquema temporal sobre el proceso de obtención de las plantas para el experimento 3.

4.2.2 *Diseño experimental y condiciones de crecimiento*

El experimento consistió en dos factores, “origen” como factor de clasificación e “inundación” como factor de tratamiento. Los niveles del factor origen fueron individuos recolectados de la posición alta y baja de la marisma, mientras que los niveles del tratamiento de inundación fueron el control y la inundación salina intermitente (ISI). Cada combinación de origen x inundación tuvo 20 repeticiones verdaderas, y por lo tanto hubo 80 unidades experimentales. Las plantas crecieron en

arena, en macetas plásticas de 2 L con orificios de drenaje. El experimento comenzó después de un período de 7 días de aclimatación, en el cual la mitad de las plantas fueron sometidas progresivamente a concentraciones salinas crecientes (agregando 100 mM de NaCl cada dos días hasta alcanzar la concentración salina final), para evitar un posible shock osmótico producto de la imposición repentina del nivel final de salinidad experimental propuesto.

Para simular la marea se realizó una inundación salina intermitente (ISI) sumergiendo las macetas en bateas de plástico que contenían una solución salina de 30 dS m^{-1} por 9 horas diarias (desde las 8 am hasta las 17 pm) durante 60 días. La inundación salina se realizó manteniendo el pelo de agua 5 cm por encima del nivel del sustrato. Las plantas al tiempo inicial tenían aproximadamente 65.6 cm de altura, de manera tal que solo un 7.6% de las plantas quedaba sumergido durante la inundación. Simultáneamente, las plantas control fueron introducidas en bateas similares pero sin solución salina (vacías) (Fig. 4.2 b). La solución salina se obtuvo agregando NaCl (Biopack®, Buenos Aires, Argentina; Pureza $\geq 99.0\%$) al agua corriente para obtener la concentración salina deseada (300 mM de NaCl). La solución salina se cambió una vez por semana y su concentración se controló mediante un conductímetro portátil (HI993310, HANNA®, Rhode Island, EEUU). Las plantas control se regaron todos los días con agua corriente hasta observar un drenaje inferior completo de las macetas. Asimismo, todas las plantas recibieron 50 ml de solución Hoagland diluida al 25% [1.5 mM KNO_3 , $1 \text{ mM Ca(NO}_3)_2$, 0.5 mM MgSO_4 , $0.25 \text{ mM NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.025 mM Fe-EDTA , $0.01 \text{ mM H}_3\text{BO}_3$, $1.9 \text{ }\mu\text{M MnCl}_2$, $0.2 \text{ }\mu\text{M ZnCl}_2$, $0.09 \text{ }\mu\text{M MoO}_3$, $0.07 \text{ }\mu\text{M CuCl}_2$, $0.04 \text{ }\mu\text{M Co(NO}_3)_2$] tres veces por semana para evitar deficiencias nutricionales. El experimento se llevó a cabo en un invernáculo con condiciones

controladas de temperatura (18 ± 3 °C y 32 ± 4 °C, mínima y máxima respectivamente) y de humedad relativa ($76 \pm 7\%$) durante 60 días (Fig. 4.2 a).

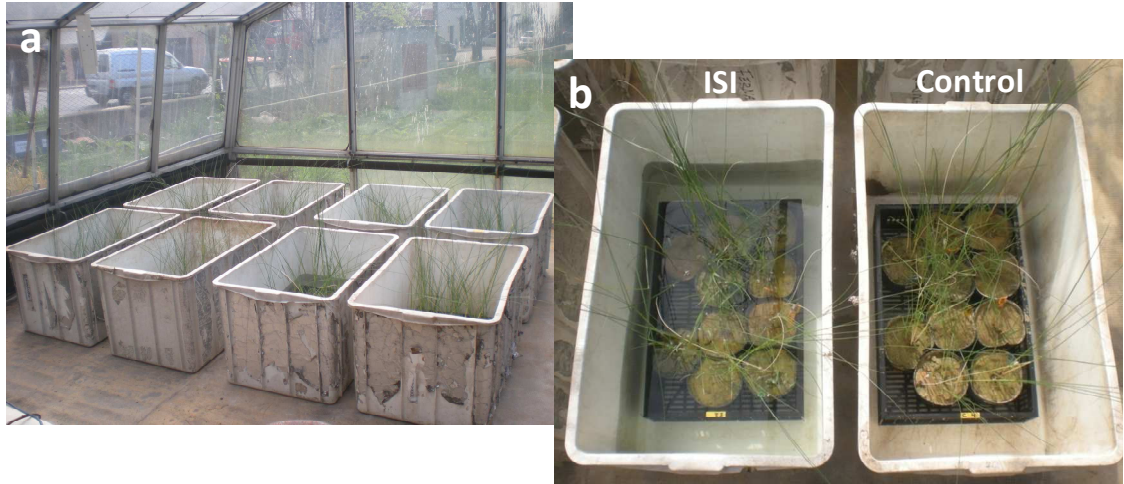


Figura 4.2: Detalle del experimento (a) y la simulación de la marea (b). Nótese en el panel b las plantas bajo el tratamiento de inundación salina intermitente (ISI) y el tratamiento control.

4.2.3 Estimación de biomasa y parámetros morfológicos

Al final del experimento (día 60), todas las plantas ($n= 20$) fueron separadas en lámina nueva y vieja, vaina, rizoma, raíz, macollos jóvenes y biomasa senescente. Asimismo, se midió el largo de la última lámina expandida, el largo de la vaina (en macollos adultos con el mismo número de hojas desarrolladas) y el número de macollos jóvenes y adultos. El material cosechado se pesó luego de ser secado por 72 hs a 70 °C. La partición de biomasa entre la parte aérea y subterránea, la biomasa de lámina y vaina, la biomasa de rizomas y raíces, y el largo de lámina y vaina fueron estudiados a través de regresiones lineales usando los datos transformados logarítmicamente. De esta manera es posible evaluar los efectos del tratamiento de manera objetiva, ya que las relaciones morfológicas y de biomasa pueden cambiar en conjunto con el tamaño de los órganos/planta (Poorter y Nagel 2000; Poorter et al. 2012).

4.2.4 Anatomía de lámina y raíces

Para evaluar cambios en caracteres morfológicos de la lámina y en el porcentaje de aerénquima de la raíz, se analizaron muestras de lámina y raíz ($n= 10$) a través de técnicas ópticas. Para esto, al final del experimento, segmentos provenientes de la sección media de la lámina de la última hoja totalmente expandida, y segmentos de raíces de 3-4 cm de largo (tomados a 2.5 cm del ápice de la raíz) fueron lavados cuidadosamente y conservados en FAA (Formol Alcohol Acético) hasta su uso. Las muestras se deshidrataron en series de concentraciones crecientes de etanol e se incrustaron en cera de parafina. Secciones de 10-12 μm de espesor se cortaron, luego se tiñeron con safranina y fastgreen y se montaron en bálsamo de Canadá. Los caracteres morfológicos de la lámina que se midieron fueron: ancho (*i.e.* perímetro abaxial), máximo y mínimo espesor, ancho de las crestas y ángulo de apertura de hoja. El máximo espesor se midió como la distancia entre la parte superior de las cinco crestas principales y la parte inferior (ver detalle en Fig. 4.5). El mínimo espesor se midió como la distancia entre la parte inferior de los surcos de las cinco crestas principales y la cara abaxial (ver detalle en Fig. 4.5). El ángulo de apertura de la hoja se midió como el ángulo formado entre la base de la cresta central y ambos extremos de la hoja (ver detalle en Fig. 4.5). Las características de las raíces medidas fueron: diámetro de raíz, diámetro del cilindro vascular, porcentaje de corteza (%), y porcentaje de aerénquima (%). Todos estos parámetros se determinaron utilizando un microscopio óptico conectado a una cámara digital, y las imágenes obtenidas se procesaron con el programa ImageJ versión 1.47 (U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, EEUU).

4.2.5 Mediciones fisiológicas

La condición fisiológica de los individuos de *S. densiflora* (n= 10) se evaluó a lo largo del ensayo a través de la cuantificación del verdor de las hojas, la fluorescencia de la clorofila y la pérdida de CO₂. El verdor de las hojas (en unidades de SPAD) se midió en láminas jóvenes y láminas viejas totalmente expandidas utilizando un medidor de clorofila portátil (SPAD-502, Minolta, Ramsey, NJ, EEUU), teniendo en cuenta de medir en hojas de similar posición/desarrollo ontogénico a lo largo del experimento. La medición de este parámetro es útil para examinar los efectos de la inundación salina intermitente sobre el amarillamiento de las láminas, lo cual está asociado a la removilización de nitrógeno producto de la senescencia foliar en relación con la edad de la hoja y/o por efecto del tratamiento. A su vez, se midió la relación entre el verdor y la concentración de nitrógeno en las láminas de *S. densiflora*, obteniéndose una relación lineal significativa entre ambos parámetros ($y = 18.3 + 20.5 x$, $r^2 = 0.36$, $P < 0.001$).

Los parámetros de fluorescencia se midieron en láminas jóvenes totalmente expandidas usando un fluorómetro de pulso modulado portátil (FMS-2, Hansatech Instruments Ltd, Kings Lynn, Reino Unido). La eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v/F_m) se midió en láminas adaptadas a la oscuridad por 20 minutos mediante el uso de clips. Este parámetro se correlaciona con el número de centros de reacción del PSII, por lo cual puede ser utilizado para cuantificar el grado de fotoinhibición (Maxwell y Johnson 2000). La eficiencia cuántica del PSII (Θ_{PSII}) se midió en la misma sección de lámina de cada planta, pero en láminas adaptadas a la luz (láminas re-adaptadas a las condiciones ambientales lumínicas por al menos durante 20 minutos) durante el mediodía de días despejados ($PPFD > 1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

La pérdida de CO₂ (Φ) se estimó como $\Phi = [(\Delta - 4.4 \text{ ‰}) * C_a/C_i + 5.7 \text{ ‰} + 4.4 \text{ ‰}] / 29 \text{ ‰}$, donde Δ es la discriminación ¹³C (en ‰) obtenida del $\delta^{13}\text{C}$ (abundancia

relativa de ^{13}C en relación al ^{12}C) de la biomasa de láminas jóvenes como $[(\delta^{13}_{\text{Atmosférico}} - \delta^{13}_{\text{Biomasa}}) / (1000 + \delta^{13}_{\text{Biomasa}})] \times 1000$, con $\delta^{13}_{\text{Atmosférico}}$ asumido igual a -8.2 ‰. Las constantes 4.4 ‰, 5.7 ‰ y 29 ‰ corresponden a la discriminación en contra de ^{13}C durante la difusión del CO_2 a través del estoma, la carboxilación del PEP (fosfoenolpiruvato) y la carboxilación por la Rubisco, respectivamente (de Farquhar 1983; Henderson et al. 1992).

4.2.6 Análisis químicos e isotópicos

Para la realización de los análisis químicos e isotópicos se molió el material seco de láminas jóvenes y viejas de la cosecha final hasta la obtención de polvo fino. La concentración de nitrógeno y la signatura isotópica del carbono (o $\delta^{13}\text{C}$, en ‰, siendo $\delta^{13}\text{C} = ((^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{muestra}} / ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{V-PDB standard}} - 1) \times 1000)$ se determinaron en alícuotas de 0.7 mg usando un analizador de elementos (NA1110, Carlo Erba Instruments, Milan, Italia) en interfaz con un espectrómetro de masa isotópica de flujo continuo (IRMS, Delta Plus, Finnigan MAT, Bremen, Alemania). La medición de las muestras se realizó utilizando un gas estándar previamente chequeado contra un estándar de validación internacional (IAEA-CH6, exactitud ± 0.06 ‰ DS). Adicionalmente, cada diez muestras experimentales se intercaló una muestra de harina de trigo (molida y tratada de igual manera que las muestras experimentales) para estimar la precisión general de los análisis isotópicos (± 0.10 ‰ DS).

Para la determinación del contenido de iones Na^+ y K^+ se obtuvo una alícuota de 10 mg de material seco, se agregó a cada muestra 1 ml de HCl 0,1N y se incubó durante dos horas a 60 °C. Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron durante 5 minutos a 10.000 rpm. El sobrenadante obtenido fue utilizado para la determinación de las concentraciones de sodio y potasio mediante

un fotómetro de llama (Marca Zeltec, Modelo ZF 250). Los valores obtenidos se interpolaron en una curva de calibración para los elementos a determinar. Por otra parte, también se determinó el contenido de Cl⁻. Para ello, 25 mg de muestra seca y molida fueron digeridos en tubos herméticamente cerrados, con una solución extractora compuesta por 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30%, 1 ml de ácido nítrico concentrado y una gota de alcohol isoamílico durante 15 minutos a temperatura ambiente. Tras la digestión, se aforó la solución resultante a 10 ml con agua destilada y se centrifugó por 5 minutos a 10.000 rpm. Se tomó una alícuota de 320 µl del sobrenadante recuperado y se le añadió 1 ml de reactivo de color, compuesto por 15 ml de solución de tiocianato de mercurio (4,17 g/L metanol), 15 ml de solución de Fe (NO₃)₃ (202 g de Fe (NO₃)₃ + 21 ml de HNO₃, enrasado a 1 L con H₂O destilada) y 50 µl de Brij® 35 (polietilen glicol dodecil éter) al 4%. Tras mezclar bien se midió la absorbancia a 450 nm (utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25) y los valores obtenidos se interpolaron en una curva de calibración comprendida entre 0-40 mg/L obtenida a partir de una solución patrón de ClK (Escaray 2012).

4.2.7 *Análisis estadístico*

Las variables de biomasa, número de macollos, variables anatómicas, discriminación del ¹³C y concentración de iones se evaluaron a partir de un ANOVA de dos vías, siendo el “origen” y la “inundación” los factores principales. Para la concentración de iones se realizaron ANOVAs diferentes para las láminas jóvenes y las láminas viejas. Cuando se encontraron interacciones significativas se realizaron pruebas de LSD Fisher para determinar el efecto de los tratamientos. Previo al análisis de los datos se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para el análisis alométrico de las variables relacionadas a la partición de biomasa (*eg.* biomasa aérea *vs.* biomasa

subterránea, biomasa de laminas vs. biomasa de vainas) se ajustaron relaciones lineales y se realizaron test para los parámetros de las ecuaciones ajustadas (pendientes y ordenadas al origen) usando el software GraphPadPrism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, California, EEUU). Esto se realizó con el objetivo de evaluar la posible existencia de cambios alométricos provocados por la inundación salina en ambas poblaciones (Poorter et al. 2012). Cuando la ordenada al origen y la pendiente de las regresiones entre los tratamientos no difirieron, los datos se agruparon presentándose una sola ecuación lineal para la población. Las variaciones en las variables fisiológicas a lo largo del ensayo se evaluaron a través de ANOVAs de medidas repetidas (ANOVA_{mr}) separadamente para cada población (Von Ende 1993). El ajuste de Greenhouse-Geisser se utilizó para cumplir el supuesto de esfericidad de las matrices de covarianza. Cuando se observó interacción significativa entre el tratamiento de inundación y las fechas se realizaron contrastes individuales para cada día a partir de pruebas de Bonferroni (Von Ende 1993). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico STATISTICA ver. 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EEUU).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Biomasa y macollaje

Al final del experimento, las plantas sometidas al tratamiento control de la posición alta y baja fueron iguales en términos de biomasa total y número de macollos. La inundación salina intermitente (ISI) disminuyó la biomasa final en mayor medida en las plantas provenientes del alto que en las provenientes del bajo, mostrando una reducción del 32% y el 15% respectivamente (Fig. 4.3; ANOVA, interacción origen \times inundación, $F_{1,76} = 4.65$, $P = 0.034$). El número total de macollos también disminuyó aproximadamente un 24% en las plantas provenientes de ambas posiciones, de 23 ± 0.8

a 17 ± 0.7 macollos por planta (ANOVA, efecto inundación, $F_{1, 76} = 48.05$, $P < 0.001$) siendo los macollos de las plantas provenientes del alto más livianos (0.36 ± 0.01 g) que los provenientes de las plantas del bajo (0.47 ± 0.02 g) (ANOVA, interacción origen \times inundación, $F_{1, 76} = 4.47$, $P = 0.038$).

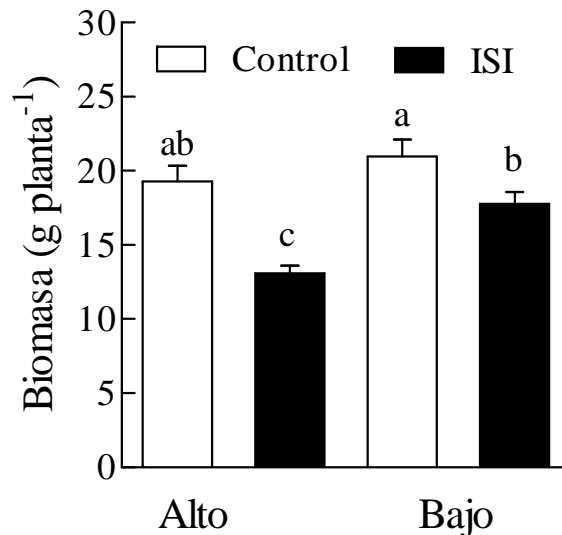


Figura 4.3: Biomasa de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n = 20$). Letras distintas indican diferencias significativas según el test de LSD Fisher ($P < 0.05$).

4.3.2 Relaciones alométricas en la partición de biomasa, forma de la lámina y anatomía de la raíz

Las relaciones entre la biomasa aérea y subterránea (Fig.4.4 a,b), y entre la biomasa de rizomas y raíces (datos no mostrados), no cambiaron entre tratamientos ni entre plantas provenientes de distintas posiciones (prueba de ordenada al origen y pendiente entre origen/inundación: $P > 0.05$). Notablemente, el tratamiento de ISI generó cambios alométricos foliares en las plantas de ambos orígenes hacia una disminución significativa en la biomasa de láminas, para todo el rango de biomasa de vainas explorado (Fig. 4.4 c,d; prueba de ordenada al origen: $P < 0.001$, prueba de pendiente: P

<0.05). A su vez, se encontró una relación positiva entre el largo de lámina y el largo de vaina, dependiente de la combinación origen/inundación (Fig. 4.4 g,h): las plantas provenientes del bajo no cambiaron esta relación en condiciones de ISI (prueba de ordenada al origen y pendiente entre tratamientos: $P > 0.05$), por lo que fueron capaces de mantener las mismas longitudes de lámina que las plantas control cuando se las sometió al tratamiento de estrés por inundación salina. En cambio, en las plantas provenientes del alto no se encontró relación entre el largo de lámina y el largo de vaina bajo el tratamiento de ISI (regresión lineal no significativa, $P = 0.5$).

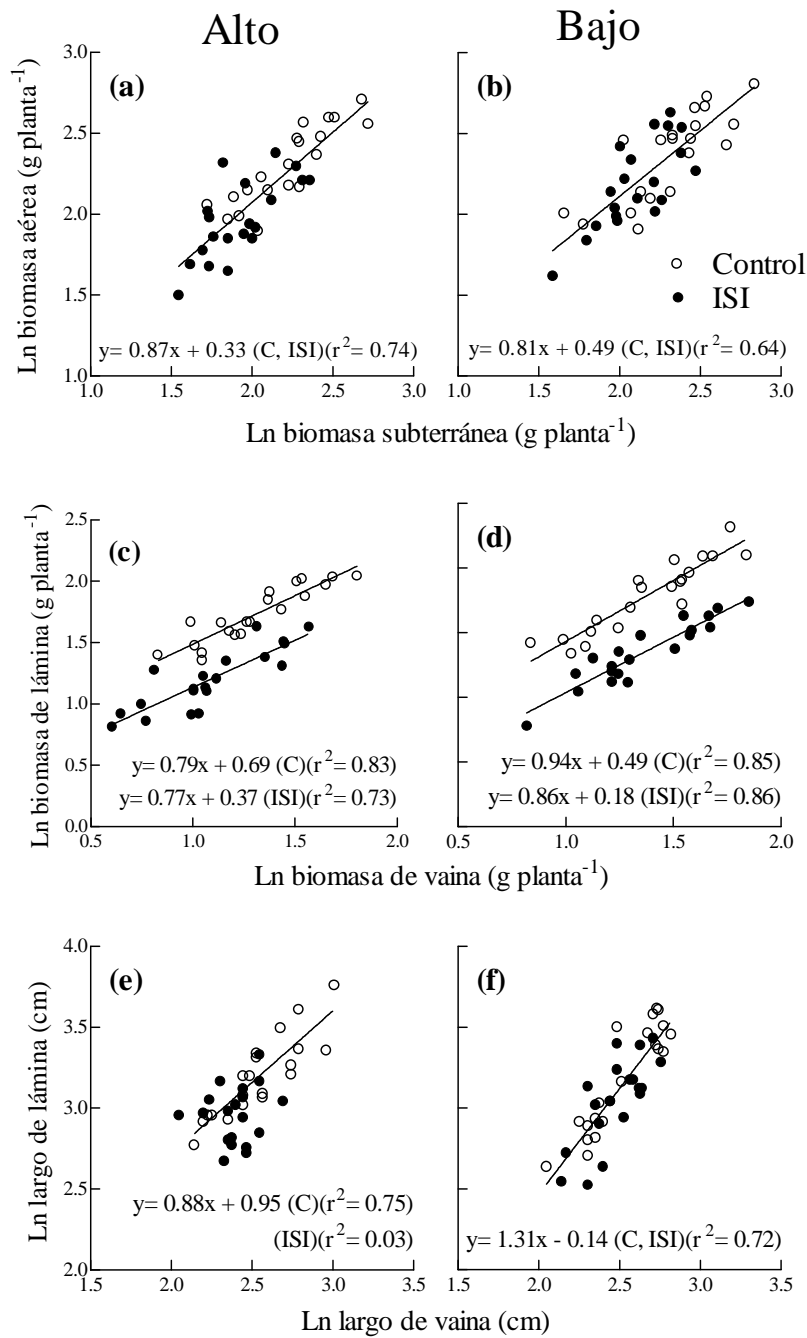


Figura 4.4: Relaciones alométricas entre: (i) biomasa aérea vs. biomasa subterránea (a,b), (ii) biomasa de lámina vs. biomasa de vaina (c,d), y (iii) largo de lámina vs. largo de vaina (e,f) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,c,e) y del bajo (b,d,f) de la marisma sometidas a tratamientos de control (círculos vacíos) e inundación salina intermitente (ISI, círculos llenos) durante 60 días ($n = 20$). Nótese que cuando los parámetros entre las regresiones no difirieron, los datos se agruparon presentándose una línea de regresión común para ambos tratamientos. Todas las regresiones fueron significativas ($P < 0.01$) exceptuando la del tratamiento de ISI en (e).

La forma de la lámina en *S. densiflora* se caracteriza por presentar un lado abaxial plano y un lado adaxial compuesto por crestas grandes y pequeñas alternadas (Fig. 4.5 a,b,e,f). La parte superior de las crestas más grandes está compuesta por células parenquimáticas incoloras, y los haces vasculares están situados cerca de la epidermis abaxial con grupos de células mecánicas (células buliformes) entre ellos. Asimismo, se observa que la lámina es asimétrica ya que los extremos de la misma presentan distinta morfología: uno de ellos se enrolla y el otro eventualmente lo cubre (Fig. 4.5 a,b,e,f). Esta respuesta se debe a su capacidad de enrollarse impulsada por la acción de las células buliformes bajo condiciones de estrés. Los resultados muestran que bajo ISI el perímetro abaxial (ancho de lámina), el máximo y mínimo espesor y el ancho de las crestas disminuyeron simétricamente en las plantas provenientes de ambas posiciones (Fig. 4.5 a,b,e,f; Tabla 4.1; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,76} = 46.45$, $F_{1,76} = 18.03$, $F_{1,76} = 13.06$, $F_{1,76} = 9.79$ respectivamente, $P < 0.001$ para todas las variables). Por lo tanto, se observaron láminas más angostas y más finas en plantas creciendo bajo ISI en comparación con las plantas control. Como era de esperarse, el ángulo de apertura de la lámina también se redujo un 53% como consecuencia del tratamiento de ISI en las plantas provenientes de ambas posiciones (comparar Fig. 4.5 a,b,e,f y Tabla 4.1; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,76} = 45.19$, $P < 0.001$). Por lo tanto, el tratamiento de ISI afectó de manera similar la morfología de las plantas provenientes de ambas posiciones a través de la disminución del peso de las láminas (Fig. 4.4 c,d) y a través del cambio en la forma de la lámina por la disminución de su tamaño y el ángulo de apertura (Fig. 4.5 a,b,e,f; Tabla 4.1). Sin embargo, el largo de lámina en las plantas provenientes del bajo no se vio afectada (Fig. 4.4 e,f).

El aerénquima de las raíces en *S. densiflora* está formado por tejido lisígeno dispuesto radialmente en la corteza de la raíz, separado por filas de células

parenquimáticas y rodeado por un anillo de células del esclerénquima en la exodermis (Fig. 4.5 c,d,g,h). El tratamiento de ISI aumentó el porcentaje de aerénquima aproximadamente un 52% en promedio para plantas provenientes de ambas posiciones (ANOVA, efecto inundación, $F_{1,36} = 4.56$, $P = 0.04$). Este aumento se debió tanto al aumento y/o generación de aerénquima como también al incremento en la proporción de corteza de 72.2% a 81.3% (Fig. 4.5 c,d,g,h; Tabla 4.1; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,36} = 72.55$, $P < 0.001$), como resultado de una disminución del diámetro de la estela (22.2%; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,36} = 7.82$, $P = 0.008$) y un aumento en el diámetro de la raíz (18.8%; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,36} = 9.203$, $P = 0.005$).

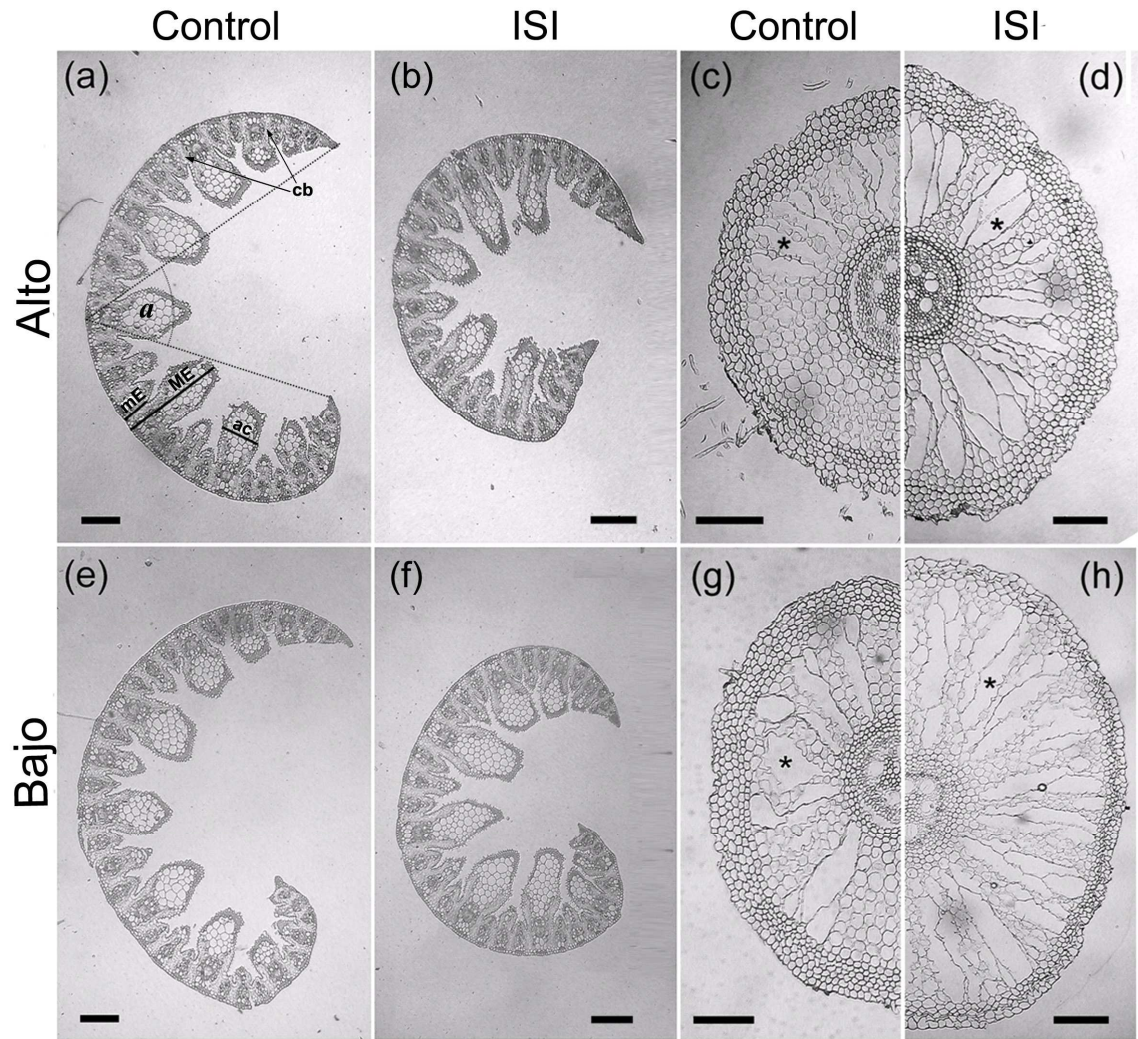


Figura 4.5: Cortes de secciones de lámina y raíz de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,b,c,d) y del bajo (e,f,g,h) de la marisma sometidas a tratamientos de control (a,e,c,g) e inundación salina intermitente (ISI) (b,f,d,h) durante 60 días. La escala de las barras representan 200 μm para las láminas (a,b,e,f) y 100 μm para las raíces (c,d,g,h). Referencias: a, ángulo de apertura de la lámina; mE, mínimo espesor; ME, máximo espesor; ac, ancho de cresta; cb, células buliformes. Asteriscos indican el aerénquima.

Tabla 4.1: Parámetros morfológicos de las láminas y raíces de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días (ver las fotografías de la Fig. 4.5). Los valores son promedios \pm EE ($n= 20$). Se detectaron efectos de ISI para todas las variables evaluadas, según ANOVAs de dos vías ($P < 0.05$).

Lámina	Alto		Bajo	
	Control	ISI	Control	ISI
Ancho (mm)	6.0 \pm 0.1	4.9 \pm 0.2	5.5 \pm 0.3	5.1 \pm 0.1
Max. espesor (μm)	547.8 \pm 9.4	516.6 \pm 13.1	567.0 \pm 11.5	498.6 \pm 11.8
Min. espesor (μm)	150.5 \pm 2.3	138.1 \pm 3.1	146.5 \pm 2.6	139.4 \pm 2.6
Ancho de cresta (μm)	237.3 \pm 3.4	227.4 \pm 3.6	247.4 \pm 8.7	217.8 \pm 7.3
Angulo de apertura ($^{\circ}$)	48.1 \pm 3.7	26.3 \pm 3.7	47.9 \pm 4.3	19.3 \pm 3.0
Raíz				
Diámetro de raíz (μm)	947.5 \pm 52.6	1082.4 \pm 44.2	909.6 \pm 71.1	1124.3 \pm 55.8
Diámetro de estela (μm)	262.7 \pm 20.8	194.6 \pm 5.7	257.7 \pm 31.1	209.9 \pm 11.7
% Corteza	72.2 \pm 1.5	81.7 \pm 1.1	72.1 \pm 1.7	80.8 \pm 1.8
% Aerénquima	18.1 \pm 4.4	33.0 \pm 4.4	22.9 \pm 6.2	29.3 \pm 4.3

4.3.3 Verdor de láminas

El verdor de las hojas comenzó a ser afectado negativamente por la ISI aproximadamente un mes después de la aplicación del tratamiento (Fig. 4.6). Sin embargo, sólo las hojas viejas fueron afectadas (Fig. 4.6 a,b; ANOVAmr, fecha \times inundación, $F_{7, 126} = 4.84$, $P < 0.01$ y $F_{7, 112} = 2.57$, $P = 0.02$, para plantas provenientes del alto y del bajo respectivamente). La reducción de este parámetro ocurrió antes y más marcadamente en las hojas viejas de las plantas provenientes del alto que en las del bajo (test Bonferroni, día 32, $P < 0.05$ y $P > 0.05$ para plantas provenientes del alto y del bajo respectivamente; comparar Fig. 4.6 a y Fig. 4.6 b). Contrariamente, las hojas jóvenes no mostraron cambios en el verdor a lo largo del experimento (ANOVAmr, efecto de fecha \times inundación: $P > 0.05$).

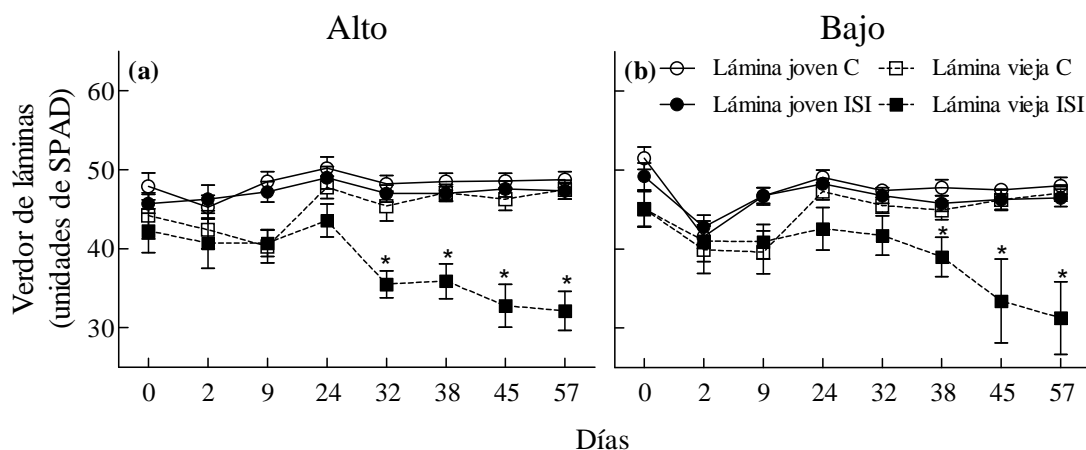


Figura 4.6: Verdor de láminas (unidades de SPAD) de láminas jóvenes y viejas de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a) y del bajo (b) de la marisma sometidas a tratamientos de control (C) e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n=10$). Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos para las láminas viejas para cada población según el test de Bonferroni ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las láminas jóvenes.

4.3.4 Fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila también fue afectada negativamente luego de un mes creciendo en condiciones de inundación salina intermitente (Fig. 4.7). La máxima eficiencia cuántica del PSII (F_v/F_m) permaneció constante durante aproximadamente 40 días, y luego comenzó a disminuir en las plantas provenientes de ambas posiciones, lo cual indicaría un daño por fotoinhibición (Fig. 4.7 a,b; ANOVAmr, fecha \times inundación, $F_{7,126} = 8.3$, $P < 0.001$ y $F_{7,126} = 15.6$, $P < 0.001$, para las plantas provenientes del alto y del bajo respectivamente). El daño en la máxima eficiencia cuántica del PSII (potencial fotoquímico medido en láminas adaptadas a la oscuridad) fue precedido por una caída temprana en la eficiencia cuántica del PSII (Θ_{PSII}) bajo condiciones de luz, la cual comenzó a caer una semana antes (ANOVAmr, fecha \times inundación, $F_{7,126} = 18.52$, $P < 0.001$ y $F_{7,126} = 12.97$, $P < 0.001$, para plantas provenientes del alto y del bajo respectivamente).

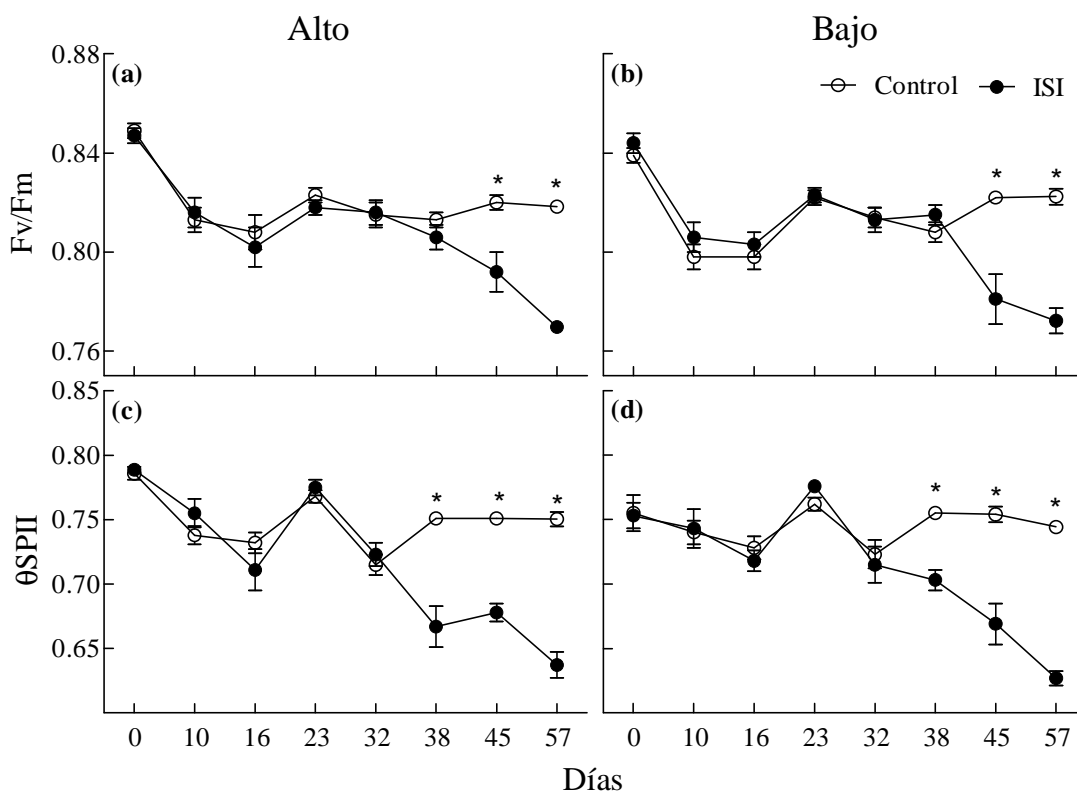


Figura 4.7: Fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm) (a,b) y la eficiencia cuántica (θPSII) (c, d) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto (a,c) y del bajo (b,d) de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n=10$). Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos para cada población según el test de Bonferroni ($P < 0.05$).

4.3.5 Discriminación del ^{13}C

El $\delta^{13}\text{C}$ de las láminas jóvenes fue afectado negativamente por la ISI, disminuyendo de -13.5 ± 0.08 ‰ a -13.9 ± 0.12 ‰ en plantas provenientes del alto, y de -13.6 ± 0.08 ‰ a -14.0 ± 0.09 ‰ en plantas provenientes del bajo (ANOVA, efecto inundación, $F_{1,36}=20.09$, $P < 0.001$). En hojas viejas, el efecto de la ISI sobre el $\delta^{13}\text{C}$ no fue significativo (información no mostrada). Por lo tanto, la discriminación de ^{13}C fue superior al 5 ‰ en todos los casos. En las plantas C_4 , la discriminación de ^{13}C está determinada por la relación entre CO_2 intercelular y atmosférico (C_i/C_a) y por la pérdida de CO_2 –

proporción de CO₂ bombeado por las células de la vaina por el ciclo de Reducción del Carbono Fotosintético que no ha sido fijado por la Rubisco y difunde nuevamente al mesófilo (Farquhar et al. 1989). Aunque en este experimento no se midió C_i/C_a , los datos sugieren que la pérdida de CO₂ fue en general elevada en estas plantas, muy por encima de 0.40 (Fig. 4.8). Del mismo modo, el aumento de la discriminación del ¹³C con ISI, de $5,4 \pm 0,06$ ‰ a $5,9 \pm 0,06$ ‰, sugiere que la pérdida de CO₂ aumentó. La Figura 4.8 muestra que si la ISI modifica la C_i/C_a , la magnitud del efecto variará entre 0.02 y 0.08 unidades, dependiendo de la C_i/C_a . Si la ISI realmente disminuye la C_i/C_a como consecuencia del cierre estomático, la magnitud del efecto sería aún mayor.

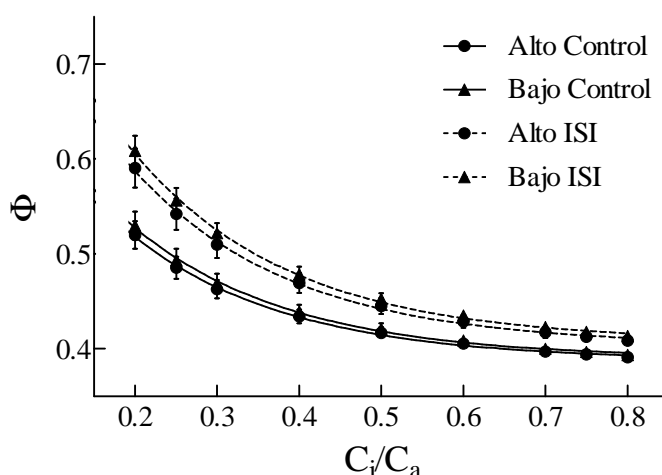


Figura 4.8: Pérdida de CO₂ (Φ) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma estimada a partir de mediciones de discriminación de ¹³C (Δ) en láminas jóvenes. La pérdida fue calculada usando la relación $\Phi = ((\Delta - 4.4) * C_a/C_i + 5.7 + 4.4) / 29$ para un rango de relación de CO₂ intercelular (C_i) /ambiental (C_a). Las plantas fueron sometidas a los tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n= 10$).

4.3.6 Concentración de iones en láminas

El tratamiento de ISI aumentó la concentración de Na⁺ tanto en hojas jóvenes como en hojas viejas (Tabla 4.2; ANOVA, efecto inundación, $F_{1,76} = 1089.2$, $P < 0.001$ en hojas jóvenes y $F_{1,76} = 1047.3$, $P < 0.001$ en hojas viejas). Esto ocurrió conjuntamente con una

disminución en la concentración de K^+ de los tejidos, lo cual derivó en un aumento significativo de la relación Na^+/K^+ . Las plantas provenientes del alto mostraron una mayor relación Na^+/K^+ en los tejidos de las láminas que las plantas provenientes del bajo (Tabla 4.2; interacción origen \times inundación, $F_{1,76} = 5.5$, $P < 0.05$ para láminas jóvenes, e interacción origen \times inundación, $F_{1,76} = 6.5$, $P < 0.05$ para láminas viejas). Por otro lado, la concentración de Cl^- en los tejidos sólo aumentó en láminas viejas (no así en láminas jóvenes) en las plantas provenientes de ambas posiciones (Tabla 4.2; $F_{1,76} = 20.2$, $P < 0.001$). Es importante destacar que, en las hojas jóvenes funcionales, las plantas provenientes del bajo fueron más eficaces en la exclusión del Cl^- y en la absorción del K^+ que las plantas provenientes del alto, ya que presentaron menor concentración de Cl^- y mayor concentración de K^+ y un efecto significativo del nivel “origen” (Tabla 4.2).

Tabla 4.2: Concentración de iones y relación Na^+/K^+ en láminas jóvenes (panel superior) y láminas viejas (panel inferior) de plantas de *Spartina densiflora* provenientes del alto y del bajo de la marisma sometidas a tratamientos de control e inundación salina intermitente (ISI) durante 60 días. Los valores son promedios \pm EE ($n = 20$). Se presentan los valores F de los ANOVAs de dos vías. Los grados de libertad para cada fuente de variación fueron: 1 (Origen), 1 (Inundación), 1 (O x I) y 76 (error). Diferencias significativas: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ns, $P > 0.05$; basado en el test de LSD Fisher ($P < 0.05$). Distintas letras indican diferencias significativas cuando la interacción Origen x Inundación fue detectada.

Láminas jóvenes	Alto		Bajo		Valor- <i>F</i>		
	Control	ISI	Control	ISI	Origen	Inundación	Interacción
Cl^- (mg g^{-1})	10.29 \pm 0.29	11.62 \pm 0.65	9.10 \pm 0.23	8.90 \pm 0.38	14.9 **	1.0 ns	1.3 ns
Na^+ (mg g^{-1})	0.46 \pm 0.01 c	1.29 \pm 0.03 b	0.44 \pm 0.02 c	1.41 \pm 0.03 a	3.5 ns	1089.2 ***	6.3 *
K^+ (mg g^{-1})	0.85 \pm 0.03	0.22 \pm 0.01	0.87 \pm 0.02	0.29 \pm 0.01	5.0 *	868.2 ***	1.2 ns
Na^+/K^+	0.54 \pm 0.02 c	5.82 \pm 0.20 a	0.50 \pm 0.03 c	4.83 \pm 0.26 b	6.34 *	850.9 ***	5.5 *
<hr/>							
Láminas viejas							
Cl^- (mg g^{-1})	14.57 \pm 0.61	17.98 \pm 0.89	15.50 \pm 0.37	18.39 \pm 0.75	1.7 ns	20.2 ***	0.2 ns
Na^+ (mg g^{-1})	0.43 \pm 0.02	1.47 \pm 0.04	0.39 \pm 0.03	1.35 \pm 0.03	6.6 *	1047.3 ***	1.6 ns
K^+ (mg g^{-1})	0.57 \pm 0.03	0.10 \pm 0.01	0.53 \pm 0.03	0.14 \pm 0.01	0.03 ns	403.8 ***	3.0 ns
Na^+/K^+	0.75 \pm 0.06 c	14.70 \pm 1.60 a	0.73 \pm 0.09 c	9.64 \pm 1.04 b	6.7 *	155.6 ***	6.5 *

4.4 DISCUSIÓN

4.4.1 *Partición de biomasa y cambios anatómicos en respuesta a la inundación salina intermitente*

En un meta-análisis realizado recientemente, Poorter et al. (2012) indicó que la salinidad afectaría mínimamente la partición de biomasa mientras que los cambios más importantes estarían asociados con perjuicios sobre la tasa de fotosíntesis y la respiración. Además, estos autores indicaron que la inundación (en especies tolerantes) generalmente promueve cambios en la partición de biomasa hacia los órganos aéreos, lo que permite aumentar el área foliar expuesta sobre el nivel del agua (ver también Striker et al. 2011). Esta respuesta permitiría a las plantas mantener la fotosíntesis aérea y la captura de oxígeno de las hojas lo cual favorece la oxigenación de los tejidos sumergidos, a través del transporte del mismo por el aerénquima (Striker et al. 2005; Colmer y Voisenek 2009). Por un lado, los resultados del presente capítulo coinciden con Poorter et al. (2012) ya que se encontró un efecto negativo de la ISI sobre las variables fisiológicas medidas; por otro lado, se encontraron diferencias consistentes en la partición de biomasa entre los órganos aéreos (Figs. 4.4 y 4.5; Tabla 4.1). La ISI promovió una disminución en la partición de biomasa hacia las láminas en relación a las vainas en ambas poblaciones (Fig. 4.4 c,d), pero solo las plantas provenientes del bajo fueron capaces de continuar la elongación de sus láminas sin mostrar diferencias entre los tratamientos control y de ISI. Por el contrario, las plantas provenientes del alto, cuando fueron sometidas a ISI, no fueron capaces de mantener la elongación de sus láminas, lo que indicaría un mayor grado de estrés en estas plantas (comparar Fig. 4.4 e con 4.4 f). Estos resultados permiten concluir que el alargamiento foliar normal que suele observarse en especies tolerantes a la inundación no es proporcional en la lámina y en la vaina, sino que la lámina se ve más afectada que la vaina en las plantas

provenientes del alto. Asimismo, podemos ver que estos cambios en la longitud de la lámina no está acompañado de un cambio en la asignación de biomasa hacia la misma (Fig 4.4 c,d,e,f). Biológicamente se puede decir que las láminas más largas podrían permitir una mayor exposición de área foliar para la planta si el nivel de inundación aumenta (aunque en este caso especial no pareciera tan relevante debido al alto porte natural de las plantas). Por otro lado, coincidiendo en parte con lo planteado por Poorter et al. (2012), la ISI no modificó la partición de biomasa entre la parte aérea y subterránea. Esto puede deberse a que *S. densiflora* es una especie que tiene un morfotipo erecto, por lo que el aumento de biomasa hacia los órganos aéreos no resultaría necesario para la captura de oxígeno, ya que, aún en las posiciones bajas de la marisma, las plantas nunca son sumergidas completamente.

Asimismo, ambas poblaciones de *S. densiflora* mostraron cambios considerables (y similares) en la forma de la lámina: una disminución en el ancho, espesor y ángulo de apertura (*i.e.* enrollamiento foliar) (Tabla 4.1). Estos resultados sugieren que, junto con la reducción en la proporción de láminas, las plantas optimizan la capacidad de tolerar el estrés impuesto por la inundación salina intermitente (principalmente el componente osmótico de la salinidad) reduciendo el área foliar expuesta a la transpiración. La menor transpiración en condiciones de ISI estaría promovido por el enrollamiento foliar (observar la presencia de células buliformes en la Fig. 4.5 a) como también fue observado en un estudio anatómico realizado por Maricle et al. (2009), y por la capacidad de disminuir el tamaño de la hoja.

La generación de aerénquima es otra respuesta común a la inundación en las plantas, ya que este tejido facilita el transporte de oxígeno y otros gases entre las raíces y la parte aérea, evitando los efectos adversos de la anaerobiosis del suelo en condiciones de excesos hídricos (Jackson y Armstrong 1999; Voesenek et al. 2006).

Especies con grandes volúmenes de aerénquima radical son más tolerantes al efecto conjunto de la inundación y la salinidad que aquéllas con menos proporción de aerénquima. Esto se debe a que en estas últimas, la deficiencia de oxígeno en las raíces consecuencia de la baja proporción de aerénquima, podría reducir drásticamente la energía disponible generada por respiración aeróbica, requerida para mantener el transporte de iones a través de las membranas, lo cual inhibiría parcialmente el mecanismo que favorece la absorción de K^+ y la exclusión de Na^+ y Cl^- (Barret-Lennard 2003; Colmer y Flowers 2008; Barrett-Lennard y Shabala 2013). Los resultados obtenidos en el presente capítulo coinciden en que la tolerancia de ambas poblaciones de *S. densiflora* a la inundación y a la salinidad estaría relacionada a la elevada proporción de aerénquima, y a la capacidad de aumentar el tejido lisígeno aerénquimático bajo las condiciones impuestas de estrés (Justin y Armstrong 1987; Pezeshki 2001). Estos resultados coinciden con otros estudios comparativos donde distintas especies mostraron la habilidad plástica para aumentar la porosidad de las raíces debido a la generación de tejido aerenquimático en el parénquima cortical (Visser et al. 2000; Grimoldi et al. 2005). Los resultados sugieren que la salinidad (como ISI) no afectaría la captura y transporte de oxígeno (hojas fuera del agua y aerénquima en vainas y en raíces); por lo tanto, las diferencias en la regulación de iones entre poblaciones parecieran ser propias de cada población (ver discusión en la próxima sección) y no estarían relacionadas (ni limitadas) al potencial de aireación alto intrínseco que tienen las raíces de estas poblaciones.

4.4.2 Diferencias en la regulación iónica, senescencia foliar y parámetros fisiológicos entre poblaciones

El funcionamiento fisiológico de *S. densiflora* en relación a la ISI fue afectado de manera distinta en ambas poblaciones, especialmente en relación a la regulación de iones (Tabla 4.2) y el momento en que se produce la senescencia en hojas viejas (Fig. 4.6). Estas diferencias refuerzan la idea de que ambas son poblaciones localmente adaptadas asociadas al régimen de ISI de la marisma, siendo la población del bajo más tolerante. Naturalmente, las diferencias que se encontraron están dentro de un rango mucho menor que las informadas en estudios que comparan distintas especies de una marisma (Hester et al. 2001). Estos cambios más sutiles son esperables ya que ambas poblaciones del presente experimento son de la misma especie y por lo tanto tienen una base genética presumiblemente muy similar (ver también Nyberg Berglund et al. 2003). La capacidad para regular iones varió entre poblaciones, teniendo la población del bajo una mejor capacidad para excluir Cl^- y mantener mayores concentraciones de K^+ en hojas jóvenes sujetas a ISI que la población del alto. Además, la relación Na^+/K^+ fue menor en hojas jóvenes de plantas provenientes del bajo a pesar de tener una concentración ligeramente mayor de Na^+ respecto a las plantas provenientes del alto (ver Tabla 4.2). Estos resultados coinciden con lo postulado en una revisión reciente realizada por Barrett-Lennard y Shabala (2013) donde se destaca la importancia de mantener una baja relación Na^+/K^+ y una homeostasis en la concentración de K^+ en hojas funcionales (jóvenes) cuando se quiere identificar a los genotipos más tolerantes a la inundación salina (ver también Munns 2002; Munns y Tester 2008 sólo para salinidad).

La concentración de nitrógeno, medida como verdor de la hoja, fue afectada negativamente solo en láminas viejas sujetas a ISI (Fig. 4.6), indicando una posible

removilización de nitrógeno hacia las hojas jóvenes y una senescencia prematura de las hojas viejas sujetas a ISI (Hörtensteiner y Feller 2002; Desclos et al. 2009). La disminución en el verdor de las hojas viejas sujetas a ISI comenzó antes en la población del alto (luego de 32 días) que en la del bajo (luego de 38 días) indicando una menor tolerancia de la primera. Esta respuesta coincide con la concentración ligeramente mayor de Na^+ , la menor concentración de K^+ y por lo tanto la mayor relación Na^+/K^+ registrada en las hojas viejas de la población del alto (Tabla 4.2), lo cual puede estar asociado ya sea con una senescencia temprana desencadenada por la salinidad o con una progresiva pérdida en la capacidad de regulación de iones durante la senescencia (Balazadeh et al. 2010). Todas estas respuestas ayudan a explicar porqué la acumulación de biomasa a nivel de planta entera fue menor en las plantas provenientes de la población del alto, cuyas hojas viejas comenzaron a senescer antes, y por lo tanto la biomasa total se vio más reducida que en las plantas de la población del bajo (Fig 4.1).

Con relación al funcionamiento del aparato fotosintético, se conoce que la fotoinhibición puede ocurrir en respuesta a varios tipos de estrés ambiental (Takahashi y Murata 2008), incluidas las inundaciones (Mateos-Naranjo et al. 2007) y la salinidad (Redondo-Gómez et al. 2007). El daño en el aparato fotosintético al nivel del PSII – evaluado a través de la fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m) y la eficiencia cuántica (θPSII) – conlleva a una reducción en la capacidad fotosintética de la hoja (Maxwell y Johnson 2000). En cuanto a la tolerancia de esta especie, se encontró una disminución del F_v/F_m y del θPSII solo después de 45 y 38 días de comenzado el tratamiento de ISI respectivamente (Fig. 4.7), lo cual confirma que *S. densiflora* es una especie muy tolerante a la ISI. Esta habilidad de mantener estable por más de un mes el funcionamiento del PSII concuerda con lo encontrado por Maricle et al. (2007) y Mateos-Naranjo et al. (2007) para la misma especie. En el primer estudio no se

registraron efectos en Fv/Fm en plantas inundadas por 30 días con agua salina (30 ‰ de salinidad), mientras que en el segundo estudio la inundación no salina redujo el Fv/Fm y el θ PSII recién luego de 8 semanas. Por lo tanto, en conjunto, los resultados de la presente tesis refuerzan la idea de la alta tolerancia de *S. densiflora* al estrés hipóxico-salino. En cuanto a las poblaciones, no se encontraron marcadas diferencias en el momento y magnitud de la caída en estos parámetros entre ambas poblaciones (Fig. 4.7), lo cual indicaría que el funcionamiento del aparato fotosintético, evaluado a través de la fluorescencia, no diferencia a las poblaciones. Con respecto a los mecanismos implicados en la reducción del Fv/Fm y del θ PSII de ambas poblaciones sujetas a ISI, podría deberse al efecto tóxico provocado por un aumento en la acumulación de Na^+ y Cl^- y a la alta relación Na^+/K^+ en hojas jóvenes (ver Tabla 4.2, panel superior) y no a una deficiencia de nitrógeno en las hojas (similares valores de verdor en hojas jóvenes; Fig. 4.6 a,b). En relación a esto, la reducción en la concentración de K^+ junto con la acumulación de Na^+ y Cl^- en las hojas de las plantas sometidas a ISI, pudieron haber aumentado el nivel intracelular de especies reactivas del oxígeno, las cuales hubieren provocando una alteración en el funcionamiento del PSII (Munns y Tester 2008; Takahashi y Murata 2008).

La ISI aumentó la discriminación del ^{13}C de 5.4 ‰ a 5.9 ‰ en las plantas de ambas poblaciones. La inundación *per se* parece afectar poco la discriminación del ^{13}C (Waring y Maricle 2012), lo cual sugiere que plantas sometidas a ISI respondieron a la salinidad más que a la inundación. En plantas con metabolismo C_4 , aumentos en la discriminación del ^{13}C revelan que una alta proporción de CO_2 se pierde por fuera de las células de la vaina y/o bien que la relación Ci/Ca es muy alta (si la discriminación del ^{13}C está por encima de 4.5 ‰; Farquhar et al. 1989). Aumentos en la relación Ci/Ca es una respuesta a la ISI poco probable en *Spartina*. De hecho, Maricle et al. (2007) no

encontraron diferencias en C_i/C_a en plantas de *Spartina* inundadas con agua salina (30 ‰ de salinidad) vs. inundadas con agua no salina. Por lo tanto, la mayor discriminación del ^{13}C observada bajo ISI indicaría un aumento en la pérdida de CO_2 y, por lo tanto, un acoplamiento menos eficiente entre los ciclos de reducción del carbono fotosintético (PCR) y de asimilación del carbono fotosintético (PCA). En el presente experimento, el efecto de la ISI sobre la pérdida de CO_2 fue relativamente pequeño y similar entre las poblaciones del alto y del bajo (Fig. 4.8). Por lo tanto, el funcionamiento del mecanismo fotosintético de las plantas C_4 , sujeto a ISI, no fue alterado en gran medida en ninguna de las poblaciones. Estos resultados van en contra de lo observado en muchas especies C_4 no adaptadas a la salinidad (e.g. Meinzer et al. 1994; Bowman et al. 1989).

Resumiendo, los resultados muestran claras diferencias para algunos parámetros medidos entre plantas provenientes del alto y del bajo de la marisma. Con lo cual, las plantas provenientes del bajo de la marisma estarían mejor adaptadas a la inundación salina intermitente (ISI) que las plantas provenientes del alto: la ISI redujo la producción de biomasa en un 15 % en plantas provenientes del bajo, y en un 32% en las provenientes del alto (Fig. 4.3). Esta mayor tolerancia de la población del bajo se debió a la mejor regulación de iones (menor relación Na^+/K^+ , Tabla 4.1) y a la capacidad de mantener la elongación foliar (Fig. 4.4). Más aún, las plantas provenientes del bajo mantienen verdes sus hojas viejas por más tiempo (sin senescencia prematura) cuando están bajo ISI (Fig. 4.6). Por lo tanto, este capítulo presenta evidencias que apoyan la idea de que la dominancia en la cobertura de *S. densiflora* a lo largo de todo el gradiente de elevación de las marismas podría deberse, en parte, a la existencia de poblaciones localmente adaptadas. El efecto de la ISI sobre el funcionamiento del aparato fotosintético fue similar en ambas poblaciones (Fig. 4.7, 4.8), lo que sugiere que la fijación de carbono a nivel de hoja no sería determinante en la adaptación diferencial de

estas poblaciones en estos ambientes como sí lo serían las variables mencionadas previamente (*i.e.* mantenimiento del tamaño y del verdor de las láminas foliares en el tiempo, y una mejor regulación de iones en plantas del bajo).

CAPITULO 5

CONCLUSIÓN GENERAL

El objetivo general de la presente tesis fue contribuir al desarrollo del conocimiento sobre el efecto del pastoreo y la inundación salina sobre ecosistemas de marismas. Para ello se plantearon tres objetivos específicos con tres capítulos experimentales. En los primeros dos capítulos experimentales se estudió el efecto del pastoreo, como principal disturbio antrópico de la marisma bajo estudio, sobre el suelo y sobre la vegetación, respectivamente. En el tercer capítulo experimental se estudió el efecto de la inundación salina, como principal disturbio natural, sobre dos poblaciones de *S. densiflora* provenientes de posiciones topográficas contrastantes.

Más específicamente, el **primer objetivo** fue estudiar el efecto del pastoreo continuo sobre propiedades físicas y químicas del suelo, a lo largo de un gradiente ambiental de estrés, y su efecto sobre la dinámica estacional de esas propiedades. Para este objetivo en el capítulo 2 de la tesis se plantearon dos hipótesis. En la primera (Hipótesis 1.1) se propuso que la alteración/degradación física y química del suelo por efecto del pastoreo es más severa en las posiciones más bajas del gradiente topográfico debido al mayor contenido de humedad del suelo, mayor proporción de suelo desnudo y mayor proximidad de la capa freática salina. Para el caso de las propiedades físicas no se cumplió la hipótesis ya que el pastoreo generó un aumento en la densidad aparente y la capacidad portante (compactación) en todas las posiciones del gradiente topográfico. Sin embargo, con respecto a las propiedades químicas, se aceptó la hipótesis ya que el mayor aumento en salinidad por el efecto del pastoreo se observó en las posiciones medias y bajas, donde el pastoreo a su vez tuvo una tendencia a aumentar la proporción de suelo desnudo. En la segunda hipótesis relacionada al objetivo 1 (Hipótesis 1.2) se propuso que las variaciones estacionales de las propiedades edáficas son mayores en los sitios pastoreados que en los no pastoreados, debido al impacto del pisoteo y la pérdida de cobertura asociados al pastoreo. Nuestros resultados no apoyaron la hipótesis ya que

ninguna de las variables edáficas estudiadas mostró una dinámica estacional distinta entre sitios no pastoreados y pastoreados.

En el **segundo objetivo** se propuso estudiar el efecto del pastoreo continuo sobre la comunidad vegetal de *Spartina densiflora* a lo largo del gradiente ambiental de estrés. Los resultados obtenidos apoyaron la hipótesis planteada (Hipótesis 2.1), según la cual el pastoreo produce un cambio en la composición florística y aumenta la diversidad y riqueza florística en mayor medida en las posiciones topográficas más altas en comparación con las posiciones más bajas, donde las condiciones de estrés son mayores.

Por último, el **tercer objetivo** de la tesis fue estudiar el efecto de los ciclos diarios de inundación salina sobre poblaciones de *S. densiflora* provenientes de la posición alta y baja de la marisma. Los resultados obtenidos apoyaron la hipótesis planteada en la cual se propuso que los individuos de *S. densiflora* provenientes de la posición baja presentan mayor tolerancia a la inundación salina que aquéllos procedentes de la posición alta. La mayor tolerancia frente a la inundación salina por parte de los individuos de la posición baja, se relacionó con la expresión de caracteres morfológicos y fisiológicos (pero no anatómicos), que en conjunto redundaron en una mayor acumulación de biomasa en las plantas.

Las principales respuestas encontradas en los experimentos realizados, en el marco de los objetivos propuestos, se presentan en dos modelos explicativos.

La figura 5.1 resume esquemáticamente los principales resultados obtenidos en el Capítulo 2 y 3 de la tesis que integran el efecto del pastoreo continuo sobre el suelo y la vegetación en los ambientes de marismas estudiados. En el esquema se pueden observar las variables del suelo y de la vegetación que fueron afectadas solo por el pastoreo

(margen izquierdo, en naranja), aquellas afectadas solo por la posición topográfica (margen derecho, en azul) y las que tuvieron una respuesta al pastoreo distinta dependiendo de la posición topográfica (dentro del triángulo invertido, en marrón las variables del suelo y en verde las variables de la vegetación).

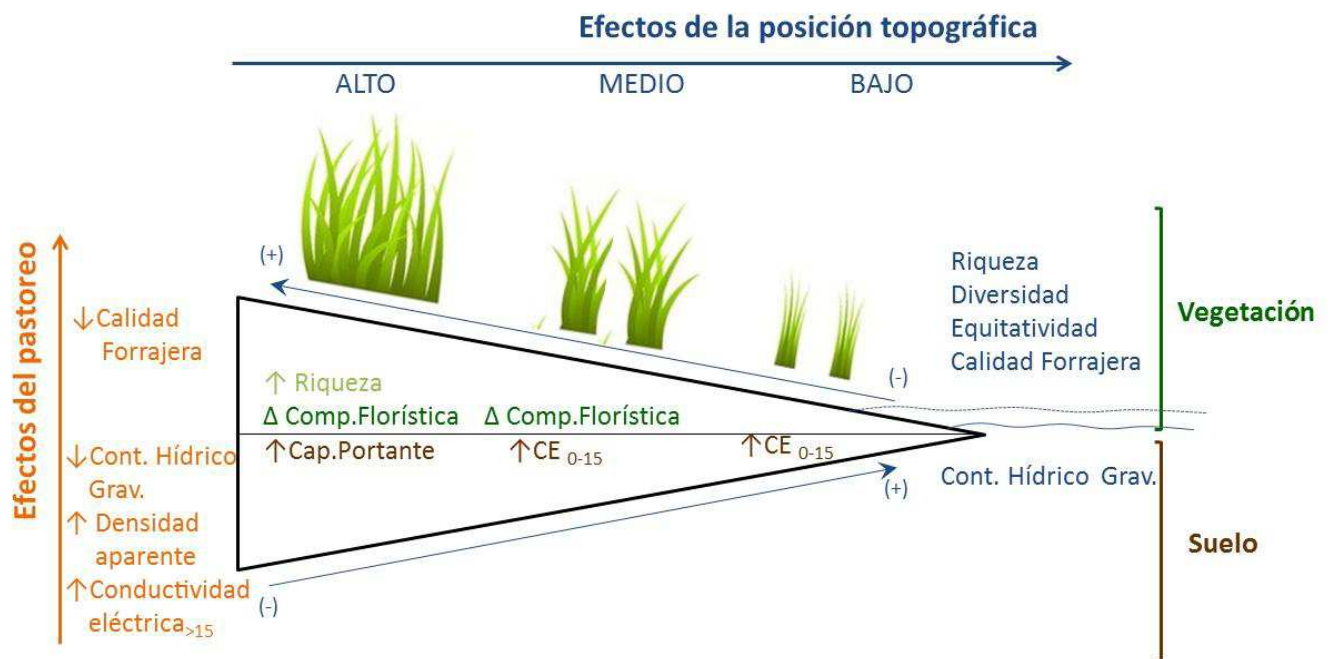


Figura 5.1: Esquema de los efectos del pastoreo (izquierda), la posición topográfica (derecha) y la interacción de ambos (dentro del triángulo invertido) sobre las propiedades físicas y químicas del suelo (abajo) y sobre la vegetación (arriba). CE₀₋₁₅: conductividad eléctrica del suelo en extracto de para los primeros 15 cm de profundidad.

Hacia las posiciones bajas del gradiente topográfico, aumenta el contenido hídrico del suelo a la vez que disminuye la riqueza, diversidad, equitatividad y, consecuentemente, la calidad forrajera, tanto en los sitios pastoreados como en los no pastoreados. Esto se debe a que a medida que se avanza hacia la parte baja de la marisma las condiciones ambientales se vuelven más estresantes (mayor frecuencia de inundación y mayor salinidad), lo cual determina que solo un grupo reducido de

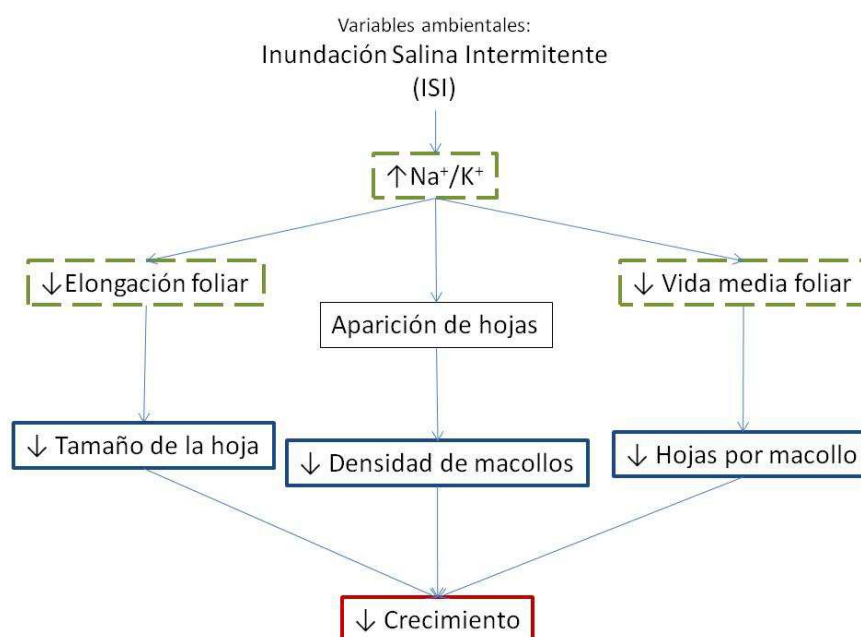
especies tolerantes a estas condiciones pueda establecerse y crecer (en general especies de menor calidad forrajera pero más tolerantes al estrés). Por otro lado, el pastoreo, independientemente de la posición topográfica, causó la compactación superficial del suelo (aumentó la densidad aparente), disminuyó el contenido hídrico y aumentó la salinidad sub-superficial (medida como conductividad eléctrica) al mismo tiempo que disminuyó la calidad forrajera de la comunidad vegetal (Fig. 5.1). Esta disminución en la calidad forrajera presumiblemente estuvo relacionada con la selectividad y pérdida de especies palatables como *Melilotus officinalis* (en la posición baja) y el aumento de especies de menor palatabilidad como *Stenotaphrum secundatum*, *Phyla canescens* y *Centaureum pulchellum* (en la posición media) y *Sarcocornia perennis* (en la posición media y baja).

Los resultados más destacados de esta sección de la tesis se desprenden de la interacción entre el efecto de la posición y el pastoreo y de cómo los cambios en las variables edáficas, provocados por la presencia de herbívoros, tendrían un efecto indirecto sobre los cambios observados en la vegetación (Fig. 5.1). Por ejemplo, en la posición alta del gradiente topográfico, el pastoreo generó un cambio en la composición florística y un leve aumento en la riqueza florística debido al aumento de la cobertura de especies gramíneas rastreras y malezas de menor calidad forrajera. Este aumento en la cobertura de especies rastreras (*i.e.* *Stenotaphrum secundatum*, *Phyla canescens*), evitó el aumento en la proporción de suelo desnudo, lo cual pudo haber impedido el ascenso de sales a la superficie en esta posición. En la posición media del gradiente topográfico, el cambio en la composición florística como consecuencia del pastoreo, estaría relacionado con el aumento en la salinidad superficial del suelo. Esto se debe a que el cambio en la composición florística de estas posiciones corresponde a una disminución en la cobertura de especies de alta calidad forrajera (*i.e.* *Melilotus officinalis*) y un

aumento en la cobertura de especies de menor calidad forrajera, pero más tolerantes a la salinidad (*i.e.* *Sarcocornia perennis*). En cambio, en la posición baja del gradiente topográfico, el aumento de la salinidad como consecuencia del pastoreo no generó cambios en la composición florística debido a que en esa posición las especies presentes ya son tolerantes a las condiciones salinas (*i.e.* *S. densiflora* y *S. perennis*). Todas estas respuestas observadas a lo largo del gradiente indicarían que el pastoreo ejerce un efecto indirecto sobre la vegetación a través de aumentos en la salinidad, ya que los aumentos en la compactación/dureza del suelo no parecen haberse asociado con efectos relevantes sobre la vegetación.

La figura 5.2 resume los efectos directos de la inundación salina intermitente (ISI) sobre las variables determinantes del crecimiento de las plantas de *Spartina densiflora* (Capítulo 4) y diferencia cuales son aquellos caracteres que explicaron las diferencias entre poblaciones de la posición alta y baja de la marisma. La producción de biomasa en las gramíneas depende de tres características estructurales fundamentales: el tamaño de la hoja, la densidad de macollos y el número de hojas verdes por macollo (Lemaire y Chapman 1996; Fig. 5.2). A su vez, estas características estructurales dependen de características morfogénicas como la tasa de elongación foliar, la tasa de aparición de hojas y la duración del área foliar verde asociada a adelantos o retrasos en la senescencia. Si bien muchas de estas variables no fueron medidas de manera directa en esta tesis, muchas de ellas guardan una estrecha relación con las mencionadas en el esquema de Lemaire y Chapman (1996). En esta tesis se observó que la ISI afectó negativamente las características estructurales de las plantas de *S. densiflora* al reducir el tamaño de la hoja (a partir de la disminución de la biomasa y la forma de las láminas). Asimismo, la ISI también redujo la densidad de macollos por planta y el número de hojas verdes por macollo (esto último medido a partir de la senescencia de

hojas viejas) (Fig. 5.2, líneas llenas). Entre las características morfogénicas mencionadas anteriormente, la longitud de la lámina (elongación foliar) y la senescencia (vida media foliar) fueron afectadas en mayor medida en la población del alto que en la del bajo. Estas variables a su vez se vieron negativamente afectadas por la mayor relación Na^+/K^+ de las hojas sujetas a ISI, que también fue mayor en la población del alto (consecuencia de una peor regulación iónica). Estos resultados contribuyen a explicar las diferencias encontradas en la acumulación de biomasa final entre ambas poblaciones (Fig. 5.2, líneas punteadas). Asimismo, revelan por primera vez la presencia de poblaciones localmente adaptadas de la especie dominante de la comunidad de la marisma y describe cuáles son los rasgos y respuestas que diferencian (y cuáles no) a ambas poblaciones.



Adaptado de Lemaire y Chapman (1996)

Figura 5.2: Esquema de los principales efectos de la inundación salina intermitente (ISI) sobre las características morfogénicas y estructurales de las plantas determinantes del crecimiento. Cuadros verdes punteados identifican las variables que afectaron en mayor medida a la población del alto que a la del bajo. Cuadros azules continuos identifican a las variables afectadas de igual manera por al ISI entre poblaciones.

Aportes originales derivados de la tesis y perspectivas de investigación futuras

Esta tesis aportó información novedosa relacionada al efecto de los principales factores antrópicos (pastoreo) y naturales (mareas) sobre el suelo y la vegetación presentes en estos ecosistemas de marismas dominados por *Spartina densiflora*.

En el primer experimento (Capítulo 2) se demostró por primera vez la fragilidad del suelo al pastoreo y pisoteo animal en la marisma bajo estudio. Se observó cómo el pastoreo compacta los horizontes superficiales del suelo aumentando la densidad aparente y la capacidad portante a la vez que aumenta la salinidad y tiende a disminuir la materia orgánica. Algunos de estos resultados fueron observados en otras marismas pero es la primera vez que se estudian estos efectos del pastoreo sobre el suelo a lo largo de un gradiente topográfico, donde las respuestas pueden variar. Según los resultados de esta tesis se está observando un cambio negativo en los suelos de estos sistemas a partir de la incorporación del ganado (aumento de la salinidad, aumentos en la compactación y tendencias a pérdidas de C del suelo), lo cual estaría poniendo en riesgo el uso sustentable de este sitio Ramsar de importancia internacional. Por lo tanto deberían evaluarse y establecerse pautas de manejo compatibles con la conservación de este ecosistema, que a su vez evalúen la resiliencia del mismo.

En el segundo experimento (Capítulo 3) se caracterizó por primera vez la zonificación de especies a lo largo del gradiente de la marisma bajo estudio, y los cambios en la composición florística que ocurren por el efecto directo (selectividad de especies) e indirecto (mediados por los cambios que el pastoreo genera en las propiedades del suelo) del pastoreo. Asimismo, se encontró que el pastoreo genera respuestas opuestas en relación a la conservación y a la producción animal. Esto se debe a que puede ser beneficioso para la conservación, al aumentar la riqueza de especies en la posición alta, pero a su vez puede ser negativo para la producción animal, al

disminuir la calidad forrajera de la comunidad vegetal. Por otro lado, los resultados sugieren que el régimen de pastoreo continuo utilizado actualmente en esta marisma puede ser el causante del efecto negativo sobre la calidad forrajera debido al pastoreo selectivo por parte del ganado.

En el tercer y último experimento (Capítulo 4) se encontró por primera vez la presencia de poblaciones localmente adaptadas de *S. densiflora* provenientes de distintas posiciones topográficas de la marisma. Asimismo, se determinó cuáles son las variables responsables de la mayor tolerancia de la población del bajo a los ciclos diarios de inundación salina (*i.e.* capacidad de mantener una baja relación Na^+/K^+ , retrasar la senescencia y mantener la elongación de sus láminas) y cuáles son aquellas que no varían entre poblaciones (anatomía de lámina y raíz y funcionamiento del aparato fotosintético).

En relación con las perspectivas de investigación futura relacionadas con el capítulo experimental 1 y 2 de la tesis, serán necesarios estudios futuros para evaluar si otras prácticas de manejo, como ser el pastoreo rotativo, los cortes o las quemas prescriptas a fines de verano podrían aumentar la calidad forrajera, la riqueza del pastizal y la cobertura del suelo, para poder alcanzar ambos objetivos, el productivo y el de conservación. De hecho, un estudio realizado en ambientes salinos de la Pampa Deprimida (estepa de halófitas) mostró que cambiando el sistema de pastoreo continuo a rotativo, se logró recuperar tanto la vegetación como el suelo de esos ambientes. En relación con la vegetación, el cambio en el sistema de pastoreo logró aumentar la cobertura total y la broza. Este aumento en la cobertura se debió principalmente al incremento de las gramíneas C_3 anuales y C_4 perennes de alta calidad forrajera lo cual también desencadenó un aumento en la riqueza del pastizal (Vecchio et al. 2009a,

2012). En relación con el suelo, disminuyó la presencia de sales (menor conductividad eléctrica), incrementó el contenido de materia orgánica y, por lo tanto, aumentó la estabilidad estructural de los suelos, haciéndolos menos susceptibles a la compactación (Vecchio et al. 2009b). Por otro lado, el uso de cortes o quemas prescriptas a fines de verano disminuirían la cobertura de *S. densiflora* y permitiría el establecimiento de otras especies, aumentando la calidad forrajera y la riqueza florística (Nasca 2001; Teague et al. 2010).

Debido a la ubicación en la interface marino-terrestre, estos ecosistemas son muy susceptibles a sufrir las consecuencias del ascenso del nivel del mar previsto para el presente siglo (IPCC 2007; Vermeer y Rahmstorf 2009; Gedan et al. 2011). En base a los resultados de esta tesis las poblaciones de *S. densiflora* de las posiciones bajas de la marisma serían más tolerantes que las poblaciones de las posiciones altas al aumento de la frecuencia de la inundación salina. De todos modos, sería interesante realizar futuros estudios que tengan en cuenta el efecto de la inundación salina continua (no intermitente) en ambas poblaciones para determinar en qué medida las diferencias observadas se magnifican o se igualan entre poblaciones.

Los resultados obtenidos a partir de esta tesis (y los interrogantes que surgen a partir de la misma), aportan nuevos conocimientos sobre estas marismas dominadas por *S. densiflora* en relación con los principales disturbios presentes en estos ecosistemas (pastoreo y mareas). Se demostró por primera vez la fragilidad del suelo al pastoreo especialmente en la posición media. Se caracterizó por primera vez la zonificación de especies a lo largo del gradiente de la marisma bajo estudio, y los cambios en la composición florística que ocurren por el efecto directo (selectividad de especies) e indirecto (mediados por los cambios que el pastoreo genera en las propiedades del

suelo) del pastoreo. Se encontró la presencia de poblaciones localmente adaptadas de *S. densiflora* provenientes de distintas posiciones topográficas de la marisma. Esta información sirve de base para conocer algunos aspectos de la estructura y funcionamiento de estas marismas dominadas por *S. densiflora* y, a partir de ello, plantear objetivos de manejo sustentable, compatibles con objetivos de producción y de conservación.

BIBLIOGRAFÍA

- Agnusdei MG (1991) Análisis de gradientes en suelos de áreas bajas de la Depresión del Salado [tesis]. Mar del Plata, Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. 109p
- Alberti J, Cebrian J, Méndez Casariego A, Canepuccia A, Escapa M, Iribarne O (2011) Effects of nutrient enrichment and crab herbivory on a SW Atlantic salt marsh productivity. *J Exp Mar Biol Ecol* 405: 99-104
- Alberti J, Méndez Casariego A, Daleo P, Fanjul E, Silliman B, Bertness M, Iribarne O (2010) Abiotic stress mediates top-down and bottom-up control in a Southwestern Atlantic salt marsh. *Oecologia* 163: 181-191
- Alconada M, Ansin OE, Lavado RS, Deregibus VA, Rubio G, Boem FHG (1993) Effect of retention of run-off water and grazing on soil yon vegetation of a temperate humid grassland. *Agr Water Manage* 23: 233-246
- Alderfer RB, Robinson RR (1947) Runoff from pastures in relation to grazing intensity and soil compaction. *J Am Soc Agron* 39: 948–958
- Allen Jr LH (2012) Chapter 13 - Greenhouse Gas Fluxes of Drained Organic and Flooded Mineral Agricultural Soils in the United States. p.221-238. En: M.A. Liebig, A.J. Franzluebbbers, R. F. Follett (eds.) *Managing Agricultural Greenhouse Gases*. Academic Press-Elsevier
- Altesor A, Oesterheld M, Leoni E, Lezama F, Rodríguez C (2005) Effect of grazing on community structure and productivity of a Uruguayan grassland. *Plant Ecol* 179:83-91
- Altesor A, Piñeiro G, Lezama F, Jackson RB, Sarasola M, Paruelo JM (2006) Ecosystem changes associated with grazing in subhumid South American grasslands. *J Veg Sci* 17:323–332
- Álvarez CR, Taboada MA (2008) CAPITULO 6. Indicadores de la fertilidad física del suelo. En: Taboada MA y CR Álvarez (Ed.). *Fertilidad Física de los Suelos*. 2da. Edición. Editorial Facultad Agronomía Universidad de Buenos Aires, 272 p. ISBN 978-950-29-1074-1.
- Andresen H, Bakker JP, Brongers M, Heydemann B, Irmeler U (1990) Long-term changes of salt marsh communities by cattle grazing. *Plant Ecol* 89: 137-148
- Armstrong W (1979) Aeration in higher plants, p. 225-332 *Advances in Botanical Research*, Vol. 7. Academic Press
- Augustine DJ, McNaughton SJ (1998) Ungulate effects on the functional species composition of plant communities: Herbivore selectivity and plant tolerance. *J Wildlife Manage* 62:1165-1183
- Bakker JP (1985) The impact of grazing on plant communities, plant populations and soil conditions on salt marshes. *Plant Ecol* 62: 391-398

- Bakker JP, Ruyter JC (1981) Effects of five years of grazing on a salt-marsh vegetation. *Plant Ecol* 44:81-100
- Balazadeh S, Wu A, Mueller-Roeber B (2010) Salt-triggered expression of the ANAC092-dependent senescence regulon in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior* 5:733-735
- Barbier EB, Hacker SD, Kennedy C, Koch EW, Stier AC, Silliman BR (2011) The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecol Monogr* 81:169-193
- Barrett-Lennard EG (2003) The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. *Plant Soil* 253:35-54
- Barrett-Lennard EG, Shabala SN (2013) The waterlogging/salinity interaction in higher plants revisited - focusing on the hypoxia-induced disturbance to K⁺ homeostasis. *Func Plant Biol* <http://dx.doi.org/10.1071/FP12235>
- Bastos EO, Perazzolo M, Gorgen AUG (1993) Ocorrência e estrutura de glândulas de sal em espécies halófitas no município do Rio Grande-RS. *Iheringia (Sér. Bot.)* 43:3-14
- Benton TG, Vickery JA, Wilson JD (2003) Farmland biodiversity: Is habitat heterogeneity the key? *Trends Ecol Evol* 18:182-188
- Bertness MD (1991) Zonation of *Spartina Patens* and *Spartina Alterniflora* in New England Salt Marsh. *Ecology* 72: 138-148
- Bertness MD, Ewanchuk PJ, Silliman BR (2002) Anthropogenic modification of New England salt marsh landscapes. *P Natl Acad Sci USA* 99: 1395-1398
- Boorman L (2003) Saltmarsh Review: An overview of coastal saltmarshes, their dynamic and sensitivity characteristics for conservation and management, in: JNCC (ed) JNCC, pp 132
- Bortolus A (2006) The austral cordgrass *Spartina densiflora* Brong.: its taxonomy, biogeography and natural history. *J Biogeogr* 33:158-168
- Bortolus A, Iribarne O (1999) Effects of the SW Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulata* on a *Spartina* salt marsh. *Mar Ecol Prog. Ser* 178: 79-88
- Bortolus A, Laterra P, Iribarne O (2004) Crab-mediated phenotypic changes in *Spartina densiflora* Brong. *Estuar Coast Shelf S* 59: 97-107
- Bos D, Bakker JP, Vries Yd, Lieshout Sv (2002) Long-Term Vegetation Changes in Experimentally Grazed and Ungrazed Back-Barrier Marshes in the Wadden Sea. *Appl Veg Sci* 5: 45-54
- Bouchard V, Tessier M, Digaire F, Vivier J-P, Valery L, Gloaguen J-C, Lefeuvre J-C (2003) Sheep grazing as management tool in Western European saltmarshes. *C R Biol* 326 (1): 148-157
- Bowman WD, Hubick KT, von Caemmerer S, Farquhar GD (1989) Short-term changes in leaf carbon isotope discrimination in salt- and water-stressed C₄ grasses. *Plant Physiol* 90:162-166

- Bradshaw AD (1965) Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. *Adv Genet* 13:115-155
- Cagnoni MA (1999) Espartillares de la costa bonaerense de la República Argentina. Un caso de humedales costeros, in: Malvárez AI (ed), *Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica*. Universidad de Buenos Aires, Programa sobre el Hombre y la Biosfera de la UNESCO, Montevideo, Uruguay, pp 55-69
- Cagnoni MA, Faggi A (1993) La vegetación de la Reserva de Vida Silvestre Campos del Tuyú. *Parodiana* 8:101-112
- Cahupé MA, Hidalgo MG, Galatoire A (1985) Aplicación de índice de valoración zootécnica en pastizales de la Depresión del Salado. *Revista Argentina de Producción Animal* 5: 681-690
- Cardoni DA, Isacch JP, Iribarne O (2007) Indirect effects of the intertidal burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* in the habitat use of Argentina's South West Atlantic salt marsh birds. *Estuar Coast* 30: 382-389
- Carol E, Kruse E, Mas-Pla J (2009) Hydrochemical and isotopical evidence of ground water salinization processes on the coastal plain of Samborombón Bay, Argentina. *J Hydrol* 365: 335-345
- Carol E, Kruse E, Pousa J (2008) Environmental hydrogeology of the southern sector of the Samborombon Bay wetland, Argentina. *Environ Geol* 54:95-102
- Castillo JM, Fernandez-Baco L, Castellanos EM, Luque CJ, Figueroa EM, Davy AJ (2000) Lower limits of *Spartina densiflora* and *S. maritima* in a Mediterranean salt marsh determined by different ecophysiological tolerances. *J Ecol* 88: 801-812
- Castillo JM, Rubio-Casal AE, Redondo S, Alvarez- López AA, Luque T, Luque C, Nieva FJ, Castellanos EM, Figueroa ME (2005) Short-term responses to salinity of an invasive cordgrass. *Biol Invasions* 7:29-35
- Chaneton EJ, Facelli JM (1991) Disturbance effects on plant community diversity: spatial scales and dominance hierarchies. *Vegetatio* 93:143-155
- Chaneton EJ, Facelli JM, Leon RJC (1988) Floristic Changes Induced by Flooding on Grazed and Ungrazed Lowland Grasslands in Argentina. *J Range Manage* 41: 495-499
- Chaneton EJ, Lavado RS (1996) Soil nutrients and salinity after long-term grazing exclusion in a Flooding Pampa grassland. *J Range Manage* 49:182-187
- Chaneton EJ, Perelman SB, Omacini M, León RJC (2002) Grazing, environmental heterogeneity, and alien plant invasions in temperate pampa grasslands. *Biol Invasions* 4: 7-24
- Chapin FS, Matson PA, Mooney HA (2002) Chapter 7 - Terrestrial Decomposition. p. 151-175. En: *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer, New York

- Chapman VJ (1974) Salt Marshes and Salt Deserts of the World. Interscience Press. New York, New York, USA
- Cingolani AM, Noy-Meir I, Díaz S (2005) Grazing effects on rangeland diversity: a synthesis of contemporary models. *Ecol Appl* 15:757–773
- Cingolani AM, Noy-Meir I, Renison DD, Cabido M (2008) Is extensive livestock production compatible with biodiversity and soil conservation? [La ganadería extensiva, ¿es compatible con la conservación de la biodiversidad y de los suelos?]. *Ecologia Austral* 18:253-271
- Collins SL, Knapp AK, Briggs JM, Blair JM, Steinauer EM (1998) Modulation of diversity by grazing and mowing in native tallgrass prairie. *Science* 280:745-747
- Colmer TD, Flowers TJ (2008) Flooding tolerance in halophytes. *New Phytol* 179:964-974
- Colmer TD, Voisenek LACJ (2009) Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments. *Funct Plant Biol* 36:665-681
- Cooper A (1982) The effects of salinity and waterlogging on the growth and cation uptake of salt marsh plants. *New Phytol* 90:263-275
- Costa CSB, Marangoni JC, Azevedo AMG (2003) Plant zonation in irregularly flooded salt marshes: relative importance of stress tolerance and biological interactions. *J Ecol* 91: 951-965
- Coverdale TC, Altieri AH, Bertness MD (2012) Belowground herbivory increases vulnerability of New England salt marshes to die-off. *Ecology* 93:2085-2094
- Cui B-S, He Q, An Y (2011) Community structure and abiotic determinants of salt marsh plant zonation vary across topographic gradients. *Estuar Coast* 34: 459-469
- Daleo P, Iribarne O (2009) The burrowing crab *Neohelice granulata* affects the root strategies of the cordgrass *Spartina densiflora* in SW Atlantic salt marshes. *J Exp Mar Biol Ecol* 373: 66–71
- Damiano F (2009) Estudio de caso: ordenamiento ambiental de la planicie costera bonaerense en el partido de General Lavalle. p.185-214. En: Taboada MA y Lavado RS. Alteraciones de Fertilidad de los Suelos. Editorial Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.
- Damiano F, Taboada MA (2000) Predicción del agua disponible usando funciones de pedo-transferencia en suelos agrícolas de la región pampeana. *Ciencia del Suelo* 18: 77-88
- Davidson DT (1965) Penetrometer measurements. En: C.A. Black (ed.). *Methods of Soil Analysis*. Part 1. Agronomy Society of America. Madison, Wisconsin. Páginas: 472-484
- de Bello F, Lavorel S, Gerhold P, Reier Ü, Pärtel M (2010) A biodiversity monitoring framework for practical conservation of grasslands and shrublands. *Biol Conserv* 143: 9-17
- de Bello F, Leps J, Sebastia M-T (2006) Variations in species and functional plant diversity along climatic and grazing gradients. *Ecography* 29: 801-810

- Deregibus VA, Casal JJ, Jacobo E, Gibson D, Kauffman M, Rodríguez A (1994) Evidence that heavy grazing may promote the germination of *Lolium multiflorum* seeds via phytochrome-mediated perception of high red/far-red ratios. *Funct Ecol* 8: 536-542
- Deregibus VA, Jacobo EJ, Rodríguez AM (1995) Improvement in rangeland condition of the Flooding Pampa of Argentina through controlled grazing. *Afr J of Range For Sci* 12: 92-96
- Desclos M, Etienne P, Coquet L, Jouenne T, Bonnefoy J, Segura R, Reze S, Ourry A, Avice J-C (2009) A combined ¹⁵N tracing/proteomics study in *Brassica napus* reveals the chronology of proteomics events associated with N remobilisation during leaf senescence induced by nitrate limitation or starvation. *Proteomics* 9:3580-3608
- Diamond J (1986) Overview: laboratory experiments, field experiments, and natural experiments. Pags. 3-22 En Diamond J y Case TJ (eds.). *Community Ecology*. Harper and Row, New York, USA
- Doody JP (2008) *Saltmarsh Conservation, Management and Restoration*. Springer, USA, 237p
- Dreccer MF, Lavado RS (1993) Influence of cattle trampling on the preferential flow path in alkaline soils. *Soil Use Manage* 9: 143-148
- Dufrene M, Legendre P (1997) Species assemblages and indicator species: The need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol Monogr* 67: 345-366
- Escaray FJ (2012) "Taninos condensados en leguminosas del género *Lotus* : estudio de sus funciones biológicas y evaluación de su utilidad en el mejoramiento de la calidad forrajera de especies de importancia agronómica". Tesis para obtener el grado de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Agropecuarias otorgado por Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Escuela para Graduados. 190 p
- Facelli JM (1988) Response to grazing after nine years of cattle exclusion in a flooding pampa grassland, Argentina. *Vegetatio* 78:21-25
- Farquhar GD (1983) On the nature of carbon isotope discrimination in C₄ species. *Aust J Plant Physiol* 10:205-226
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503-537
- Fernández GJ, Beade MS, Pujol EM, Mermoz ME (2004) Plan de manejo de la Reserva de Vida Silvestre "Campos del Tuyu", General Lavalle, Provincia de Buenos Aires. Programa Pastizales Fundación Vida Silvestre Argentina con el apoyo de The Rufford Maurice Laing Foundation, pp144
- Flowers TJ, Colmer TD (2008) Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol* 179:945-963
- Frank AB, Tanaka DL, Hofman L, Follett RF (1995) Soil carbon and nitrogen of Northern Great Plains grasslands as influenced by long-term grazing. *J Range Manage* 48:470-474
- Gedan KB, Altieri AH, Bertness MD (2011) Uncertain future of New England salt marshes. *Mar Ecol Prog Ser* 434: 229-237

- Gedan KB, Silliman BR, Bertness MD (2009) Centuries of human-driven change in salt marsh ecosystems. *Annu Rev Mar Sci* 1:117-41
- Glinski J y Lipiec J (1990) Soil physical conditions and plant roots. CRC Press Inc. Boca Ratón, Florida, USA. 250 pp.
- Golluscio RA, Austin AT, García Martínez GC, Gonzalez-Polo M, Sala OE, Jackson RB (2009) Sheep grazing decreases organic carbon and nitrogen pools in the patagonian steppe: Combination of direct and indirect effects. *Ecosystems* 12:686-697
- Greenacre MJ (1984) Theory and applications of correspondence analysis. Academic Press, London
- Greenwood KL, McKenzie BM (2001) Grazing effects on soil physical properties and the consequences for pastures: a review. *Aust J of Exp Agr* 41: 1231-1250
- Grimoldi AA, Insausti P, Vasellati V, Striker GG (2005) Constitutive and plastic root traits and their role in differential tolerance to soil flooding among coexisting species of a lowland grassland. *Int J of Plant Sci* 166:805-813
- Grossman RB, Reinsch TG (2002) Bulk density and linear extensibility, p. 201-228, In J. H. a. G. C. T. Dane, ed. *Methods of Soil Analysis, Vol. Physical Methods*. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Gupta SC y Allmaras RR (1987) Models to assess the susceptibility of soils to excessive compaction. *Adv. Soil Sci.* 6: 65-100
- Hassan FA, Ghaibeh AS (1977) Evaporation and salt movement in soils in the presence of water table. *Soil Sci Soc Am J* 41: 470-478
- Henderson DC, Ellert BH, Naeth MA (2004) Grazing and soil carbon along a gradient of Alberta rangelands. *Rangeland Ecol Manag* 57:402-410
- Henderson SA, von Caemmerer S, Farquar GD (1992) Short-term measurements of carbon isotope discrimination in several C4 species. *Aust J Plant Physiol* 19:263-285
- Hester MW, Mendelssohn IA, McKee KL (2001) Species and population variation to salinity stress in *Panicum hemitomon*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: morphological and physiological constraints. *Environ Exp Bot* 46:277-297
- Hörtensteiner S, Feller U (2002) Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *J Exp Bot* 53:927-937
- Huan J, Xia H, Cai X (2006) Effects of shading on growth and photosynthesis of three species of the genus *Stenotaphrum*. *Chinese J Ecol* 25: 759-764
- Hurlbert SH (1984) Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecol Monogr* 54: 187-211
- Instituto de Botánica Darwinion. (2011) URL: <http://www2.darwin.edu.ar/Principal.asp>
- INTA (2013) http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/3757/Grl_Lavalle/index.htm

- IPCC (2007) En: Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Avery KB, Tignor M, Miller HL (eds) Climate change 2007: The physical science basis contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, Cambridge University Press, Cambridge
- Isacch JP, Costa CSB, Rodríguez-Gallego L, Conde D, Escapa M, Gagliardini DA, Iribarne OO (2006) Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *J Biogeogr* 33:888-900
- Isacch JP, Holz S, Ricci L, Martínez M (2004) Post-fire vegetation change and bird use of a salt marsh in coastal Argentina. *Wetlands* 24: 235-243
- Jackson JE, Giuliatti JD (1988) The food habits of pampas deer *Ozotoceros bezoarticus celer* in relation to its conservation in a relict natural grassland in Argentina. *Biol Conserv* 45: 1–10
- Jackson MB, Armstrong W (1999) Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biol* 1:274-287
- Jacobo EJ, Rodríguez AM, Bartoloni N, Deregibus VA (2006) Rotational grazing effects on rangeland vegetation at a farm scale. *Rangeland Ecol Manag* 59: 249-257
- Johnston A (1962) Effects of grazing intensity and cover on the water-intake rate of fescue grassland. *J Range Manage* 15: 79–82
- Justin SHFW, Armstrong W (1987) The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New Phytol* 106:465-495
- Kleyer M, Feddersen H, Bockholt R (2003) Secondary succession on a high salt marsh at different grazing intensities. *J Coast Conserv* 9: 123-134
- Kneebone WR (1959) An evaluation of legumes for western Oklahoma rangelands. Bulletin B-539. Agricultural Experiment Station, Oklahoma, State University, Stillwater
- Krüger HR, Peinemann N (1996) Coastal plain halophytes and their relation to soil ionic composition. *Vegetatio* 122: 143-150
- Laegdsgaard P (2006) Ecology, disturbance and restoration of coastal saltmarsh in Australia: a review. *Wetl Ecol Manag* 14: 379-399
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL (2008) Assumptions and Approaches, p. 610 *Plant Physiological Ecology*. Springer New York.
- Lavado RS, Alconada M (1994) Soil properties behavior on grazed and ungrazed plots of grassland sodic soil. *Soil Technology* 7: 75-81.
- Lavado RS, Taboada MA (1987) Soil salinization as an effect of grazing in a native grassland soil in the Flooding Pampa of Argentina. *Soil Use Manage* 3: 143-148
- Lavado RS, Taboada MA (1988) Water, salt and sodium dynamics in a Natraquoll in Argentina. *Catena* 15: 577-594

- Lefeuvre JC, Bouchard V, Feunteun E, Grare S, Laffaille P, Radureau A (2000) European salt marshes diversity and functioning: The case study of the Mont Saint-Michel bay, France. *Wetl Ecol Manag* 8: 147–161
- Lemaire G, Chapman D (1996) Tissue flows in grazed plant communities. In: Hodgson J, Illius AW (eds) *The ecology and management of grazing systems*. CAB International. Wallingford, United Kingdom, pp 3-36
- León RJC (1975) Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. *Monografías Comisión de Investigaciones Científicas* 5:75–107
- León RJC, Burkart SE, Movia CP (1979) La vegetación de la República Argentina. Relevamiento fitosociológico del pastizal del norte de la Depresión del Salado (Partido de Magdalena y Brandsen, prov. de Bs.As.) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. *Serie Fotogeográfica* 17:11–93
- Loreti J, Oesterheld M (1996) Intraspecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions. *Oecologia* 108:279-284
- Lunt ID, Eldridge DJ, Morgan JW and Witt GB (2007) A framework to predict the effects of livestock grazing and grazing exclusion on conservation values in natural ecosystems in Australia. *Aust J Bot* 55: 401–415
- Luters A, Salazar JC (1999) USDA. Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica, Departamento de Agricultura, Servicio de Investigación Agrícola Servicio de Conservación de Recursos Naturales e Instituto de Calidad de Suelos
- Magurran AE (2004) *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Science, Oxford
- Maricle BR, Koteyeva NK, Voznesenskaya EV, Thomasson JR, Edwards GE (2009) Diversity in leaf anatomy, and stomatal distribution and conductance, between salt marsh and freshwater species in the C4 genus *Spartina* (Poaceae). *New Phytol* 184:216-233
- Maricle BR, Lee RW, Hellquist CE, Kiirats O, Edwards GE (2007) Effects of salinity on chlorophyll fluorescence and CO2 fixation in C4 estuarine grasses. *Photosynthetica* 45:433-440
- Marino G (2008) Buenas prácticas ganaderas para conservar la vida silvestre de las pampas: una guía para optimizar la producción y conservar la biodiversidad de los pastizales de la Bahía Samborombón . - 1a ed. - Buenos Aires: Aves Argentinas. 104 p. ISBN 978-987-22039-4-8
- Marrs RH, Rizand A, Harrison AF (1989) The effects of removing sheep grazing on soil chemistry, above-ground nutrient distribution, and selected aspects of soil fertility in long-term experiments at Moor House National Nature Reserve. *J Appl Ecol* 26:647–661

- Mateos-Naranjo E, Redondo-Gómez S, Silva J, Santos R, Figueroa ME (2007) Effect of prolonged flooding on the invader *Spartina densiflora* Brong. *J Aquat Plant Manage* 45:121-123
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J Exp Bot* 51:659-668
- McCune B, Mefford MJ (1998) PC-ORD: Multivariate analysis of ecological data. MjM Software Design, Gleneden Beach, OR
- McGarigal K, Cushman SA (2002) Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. *Ecol Appl* 12: 335-345
- Meinzer FC, Plaut Z, Saliendra NZ (1994) Carbon isotope discrimination, gas exchange, and growth of sugarcane cultivars under salinity. *Plant Physiol* 104:521-526
- Michener WK, Blood ER, Bildstein KL, Brinson MM, Gardner LR (1997) Climate change, hurricanes and tropical storms, and rising sea level in coastal wetlands. *Ecol Appl* 7: 770-801
- Milchunas DG, Lauenroth WK (1993) Quantitative effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecol Monogr* 63:327-366
- Milchunas DG, Lauenroth WK, Chapman PL, Kazempour MK (1989) Effects of grazing, topography, and precipitation on the structure of a semiarid grassland. *Plant Ecol* 80:11-23
- Millenium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystems and human well-being: current state and trends. Coastal systems. Island Press, Washington, D.C., USA
- Miñaro F, Bilenca D (2008) The conservation status of temperate grasslands in central Argentina. Special Report. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires, pp 25
- Mitsch WJ, Gosselink JG (2008) Wetlands. Van Nostrand Reinhold, New York, USA
- Mueller-Dombois D, Ellemberg H (1974) Causal analytical inquiries into the origin of plant communities. In: Mueller-Dombois D, Ellemberg H (ed) *Aims and Methods of Vegetation Ecology*, John Wiley y sons, New York, pp 335-337
- Mulholland B, Fullen MA (1991) Cattle trampling and soil compaction on loamy sands. *Soil Use Manage* 7:189-193
- Mullins CE, Fraser A (1980) Use of the drop - cone penetrometer on undisturbed and remoulded soils at a range of soil - water tensions. *J Soil Sci* 31:25-32
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 25:239-250
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* 59:651-681
- Naeth MA, Chanasyk DS, Rothwell RL, Bailey AW (1991) Grazing impacts on soil water in mixed prairie and fescue grassland ecosystems of Alberta. *Can J Soil Sci* 71, 313-325
- Nasca PB (2001) Fuego prescripto: efecto sobre la estructura y dinámica del esparrillar de *Spartina densiflora* y su uso como herramienta de manejo para la conservación del venado

- de las pampas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- Nieva FJJ, Castillo JM, Luque CJ, Figueroa ME (2003) Ecophysiology of tidal and non-tidal populations of the invading cordgrass *Spartina densiflora*: Seasonal and diurnal patterns in a Mediterranean climate. *Estuar Coast Shelf S* 57:919-928
- Noy-Meir I, Gutman M, Kaplan Y (1989) Responses of Mediterranean grassland plants to grazing and protection. *J Ecol* 77(1): 290-310
- Noy-Meir I, Kaplan Y (2002) Species richness of annual legumes in relation to grazing in Mediterranean vegetation in northern Israel. *Israel J Plant Sci* 50 (SUPPL): S95-S109
- Nyberg Berglund AB, Dahlgren S, Westerbergh A (2003) Evidence for parallel evolution and site-specific selection of serpentine tolerance in *Cerastium alpinum* during the colonization of Scandinavia. *New Phytol* 161:199-209
- Oosterheld M, Semmartin M (2011) Impact of grazing on species composition: Adding complexity to a generalized model. *Austral Ecol* 36: 881-890
- Parton WJ, Schimel DS, Cole CV, Ojima DS (1987) Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains grasslands. *Soil Sci Soc Am J* 51:1173-1179
- Pennings SC, Grant M-B, Bertness MD (2005) Plant zonation in low-latitude salt marshes: disentangling the roles of flooding, salinity and competition. *J Ecol* 93: 159-167
- Perazzolo M, Pinheiro F (1991) Aspectos anatómicos e adaptativos das partes vegetativas de *Spartina densiflora* Brong. (Gramineae) da marisma do estuário da Lagoa dos Patos-RS. *Acta Botanica Brasilica* 5:3-16
- Perelman SB, León RJC, Bussacca JP (1997) Floristic changes related to grazing intensity in a Patagonian shrub steppe. *Ecography* 20:400-406
- Perelman SB, León RJC, Oosterheld M (2001) Crossscale vegetation patterns of Flooding Pampa grasslands. *J Ecol* 89: 562-577
- Pezeshki SR (2001) Wetland plant responses to soil flooding. *Environ Exp Bot* 46:299-312
- Poorter H, Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Aust J Plant Physiol* 27:595-607
- Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L (2012) Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytol* 193:30-50
- Ranwell DS (1972) *Ecology of Salt Marshes and Sand Dunes*. Chapman and Hall, London, Great Britain
- Redondo-Gómez S, Mateos-Naranjo E, Davy AJ, Fernández-Munóz F, Castellanos EM, Luque T, d Figueroa ME (2007) Growth and photosynthetic responses to salinity of the salt-marsh shrub *Atriplex portulacoides*. *Ann Bot* 100: 555-563

- Rhoades JD (1982) Soluble salts. En: AL Page, RH Miller y DR Keeney (Eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2*. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. Pág. 167-179
- Ritchie ME, Tilman D, Knops JMH (1998) Herbivore effects on plant and nitrogen dynamics in oak savanna. *Ecology* 79:165-177
- Rodríguez A, Jacobo E, Deregibus VA (1998) Germination behaviour of Italian ryegrass in flooding pampa rangelands. *Seed Sci Res* 8(4):521-528
- Rodríguez C, Leoni E, Lezama F, Altesor A (2003) Temporal trends in species composition and plant traits in natural grasslands of Uruguay. *J Veget Sci* 14: 433-440.
- Rosa García R, Celaya R, García U, Osoro K (2012) Goat grazing, its interactions with other herbivores and biodiversity conservation issues. *Small Ruminant Res* 107: 49-64
- Rusch GM, Oesterheld M (1997) Relationship between productivity, and species and functional group diversity in grazed and non-grazed Pampas Grassland. *Oikos* 78: 519-526
- Sala OE (2001) Ecology: Price put on biodiversity. *Nature* 412:34-36.
- Sala OE, Oesterheld M, León RJC, Soriano A (1986) Grazing effects upon plant community structure in subhumid grasslands of Argentina. *Vegetatio* 67: 27-32
- Scholefield D, Patto PM, Hall DM (1985) Laboratory research on the compressibility of four topsoils from grassland. *Soil Tillage Res* 6:1-16
- Schuman GE, Reeder JD, Manley JT, Hart RH, Manley WA (1999) Impact of grazing management on the carbon and nitrogen balance of a mixed-grass rangeland. *Ecol Appl* 9:65-71
- Secretaría de la Convención Ramsar [Ramsar Convention Secretariat] (2011) *The Ramsar Convention Manual: a guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971)*, 5th ed. Ramsar Convention Secretariat, Gland, Switzerland
- Servicio Hidrográfico Naval (2008) *Tabla de mareas*. Pub. H-610, Armada Argentina, Buenos Aires.
- Silliman BR, Bortolus A (2003) Underestimation of *Spartina* productivity in western Atlantic marshes: marsh invertebrates eat more than just detritus. *Oikos* 101: 549-554.
- Smith B, Wilson JB (1996) A consumer's guide to evenness measures. *Oikos* 76:70-82
- Snow AA, Vince SW (1984) Plant zonation in an Alaskan salt marsh: II. An experimental study of the role of edaphic conditions. *J Ecol* 72: 669-684
- Sousa AI, Lillebø AI, Pardal MA, Caçador I (2010) The influence of *Spartina maritima* on carbon retention capacity in salt marshes from warm-temperate estuaries. *Mar Pollut Bull* 61: 215-223
- Srivastava DS, Jefferies RL (1996) A positive feedback: herbivory, plant growth, salinity, and the desertification of an arctic salt-marsh. *J Ecol* 84: 31-42
- StatSoft Inc. (2007) *STATISTICA* (data analysis software system). Version 8.0. www.statsoft.com.

- Stewart-Oaten A, Murdoch WW, Parker KR (1986) Environmental impact assessment: “Pseudoreplication” in time?. *Ecology* 67: 929-940
- Striker GG, Insausti P, Grimoldi AA, Ploschuk EL, Vasellati V (2005) Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. *Plant Soil* 276:301-311
- Striker GG, Mollard FPO, Grimoldi AA, León RJC, Insausti P (2011) Trampling enhances the dominance of graminoids over forbs in flooded grassland mesocosms. *Appl Veg Sci* 14:95-106
- Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plants Sci* 5:537-542
- Taboada MA (2005) Efectos del pastoreo y pisoteo animal sobre las propiedades físicas de los suelos, p. 131 – 142 *Reología del suelo agrícola bajo tráfico*. Universidad de La Plata, La Plata, Bs. As, La Plata, Bs. As.
- Taboada MA (2006). Soil structural behaviour in flooded and agricultural soils of the argentine pampas. PhD Thesis Institut National Polytechnique de Toulouse, France. Available at <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000428/01/taboada.pdf>
- Taboada MA (2007) Efectos del pisoteo y pastoreo animal sobre suelos en siembra directa. 4º Simposio de Ganadería en Siembra Directa, Aapresid, Potrero de los Funes, San Luis.:71 - 83.
- Taboada MA, Lavado R, Svartz H, Segat A (1999) Structural stability changes in a grazed grassland natraquoll of the Flooding Pampa (Argentina). *Wetlands* 19:50-55
- Taboada MA, Lavado RS (1988) Grazing effects of the bulk density in a Natraquoll of Argentina. *J. Range Manage.* 41:502–505
- Taboada MA, Lavado RS (1993) Influence of cattle trampling on soil porosity under alternate dry and ponded conditions. *Soil Use Manage* 9:139-143
- Taboada MA, Lavado RS, Rubio G, Cosentino DJ (2001) Soil volumetric changes in natric soils caused by air entrapment following seasonal ponding and water table rises. *Geoderma* 101:49-64
- Taboada MA, Rubio G, Chaneton EJ (2011) Grazing impacts on soil physical, chemical, and ecological properties in forage production systems. En: *Soil management: Building a stable base for agriculture*. Hatfield JL, Sawyer TJ (eds.) American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, USA, 301-320
- Takahashi S, Murata N (2008) How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci* 3:178-82
- Teague WR, Dowhower SL, Baker SA, Ansley RJ, Kreuter UP, Conover DM, Waggoner JA (2010) Soil and herbaceous plant responses to summer patch burns under continuous and rotational grazing. *Agr Ecosyst Environ* 137: 113-123

- ter Braak CJF (1985) Correspondence analysis of incidence and abundance data: properties in terms of a unimodal response model. *Biometrics* 41:859–873
- Tessema ZK, de Boer WF, Baars RMT, Prins HHT (2011) Changes in soil nutrients, vegetation structure and herbaceous biomass in response to grazing in a semi-arid savanna of Ethiopia. *J Arid Environ* 75:662–670
- Tessier M, Vivier J-P, Ouin A, Gloaguen J-C, Lefeuvre J-C (2003) Vegetation dynamics and plant species interactions under grazed and ungrazed conditions in a western European salt marsh. *Acta Oecol* 24: 103–111
- Trilla GG, De Marco S, Marcovecchio J, Vicari R, Kandus P (2010) Net Primary Productivity of *Spartina densiflora* Brong in an SW Atlantic Coastal Salt Marsh. *Estuar Coast* 33:953–962
- Underwood AJ (1992) Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *J Exp Mar Biol Ecol* 161: 145–178
- Van Haveren BP (1983) Soil bulk density as influenced by grazing intensity and soil type on a shortgrass prairie site. *J Range Manage* 36:586–588
- Vecchio MC, Heguy B, Refi R, Chalde M, Gianotti J, Garcia J, Pellegrini A, Oyhamburu M, Lissarrague M, Golluscio RA (2012) Consecuencias del pastoreo sobre el carbono edáfico, la riqueza florística, la PPNA y sus relaciones en un pastizal halófilo de la Pampa Deprimida. XXV Reunion Argentina de Ecología Lujan, Buenos Aires Argentina
- Vecchio MC, Rodríguez A, Golluscio R, Oyhamburu M (2009a) Mejora de la vegetación natural por cambios en el uso pastoril de una estepa de halófitas del norte de la Pampa Deprimida. V Congreso Nacional sobre el manejo de Pastizales Naturales, Corrientes, Argentina
- Vecchio MC, Rodríguez A, Taboada M y Golluscio R (2009b) Mejoramiento del suelo por cambios en el uso pastoril de una estepa de halófitas del norte de la Pampa Deprimida. V Congreso Nacional sobre manejo de Pastizales Naturales, Corrientes, Argentina
- Vermeer M, Rahmstorf S (2009) Global sea level linked to global temperature. *PNAS* 106:21527–21532
- Vervoorst FB (1967) Las comunidades vegetales de la depresión del Salado (Provincia de Buenos Aires), Instituto de Botánica Agrícola, pp 262
- Vicari RL, Fischer S, Madanes N, Bonaventura SM, Pancotto V (2002) Tiller population dynamics and production on *Spartina densiflora* (brong) on the floodplain of the Paraná river, Argentina. *Wetlands* 22:347–354
- Vila AR, Beade MS, Barrios Lamunière D (2008) Home range and habitat selection of pampas deer. *J Zool* 276: 95–102
- Vince SW, Snow AA (1984) Plant zonation in an Alaskan salt marsh: I. Distribution, abundance and environmental factors. *J Ecol* 72: 651–667

- Visser EJW, Colmer TD, Blom CWPM, Voesenek LACJ (2000) Changes in growth, porosity and radial oxygen loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. *Plant Cell Environ* 23:1237-1245
- Voesenek LACJ, Colmer TD, Pierik R, Millenaar FF, Peeters AJM (2006) How plants cope with complete submergence. *New Phytol* 170:213-226
- Von Ende CN (1993) Repeated-measures analysis: growth and other time-dependent measures. In: Scheiner SM, Gurevitch J (eds) *Design and analysis of ecological plants*. Chapman & Hall, New York, USA, pp 113-137
- Walkley A, Black IA (1934) An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63: 251-263
- Waring EF, Maricle BR (2012) Photosynthetic variation and carbon isotope discrimination in invasive wetland grasses in response to flooding. *Environ Exp Bot* 77:77-86
- Warren SD, Nevill MB, Blackburn WH, Garza NE (1986) Soil response to trampling under intensive rotation grazing. *Soil Sci Soc Am J* 50:1336–1340
- Willatt ST, Pullar DM (1983) Changes in soil physical properties under grazed pastures. *Aust J Soil Res* 22:343–348
- Xin P, Jin G, Li L, Barry DA (2009) Effects of crab burrows on pore water flows in salt marshes. *Adv Water Resour* 32: 439–449
- Yu OT, Chmura GL (2009) Soil carbon may be maintained under grazing in a St Lawrence Estuary tidal marsh. *Environ Conserv* 36: 312-320
- Zhang HQ, Horn R (1996a) Effect of sheep-grazing on soil physical properties of a coastal salt marsh (1): Saturated hydraulic conductivity and soil structure. *Einfluß der beweidung auf die physikalischen eigenschaften einer salzmarsch im deichvorland (I): Die gesättigte wasserleitfähigkeit und das bodengefüge. Zeitschrift fur Kulturtechnik und Landentwicklung* 37:24-31
- Zhang HQ, Horn R (1996b). Effect of sheep-grazing on the soil physical properties of a coastal salt marsh (2): Soil strength. *Einfluß der beweidung auf die physikalischen eigenschaften einer salzmarsch im deichvorland (II): Bodenfestigkeit. Zeitschrift fur Kulturtechnik und Landentwicklung* 37:214-220